

---

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

# LES PASTEURELLA

PAR MM. CHAMBERLAND ET JOUAN

---

Depuis plusieurs années, nous avons entrepris, avec la collaboration de M. E. Fernbach, la recherche de vaccins vivants, et cultivables *in vitro*, contre les différentes pasteurelloses et en particulier contre la pasteurellose porcine. Nous reviendrons sur ces vaccins dans une note ultérieure.

Dans le cours de ces recherches, nous avons été amenés naturellement à étudier les rapports des différentes pasteurelloses entre elles. Les résultats auxquels nous sommes arrivés, à savoir que toutes ces maladies sont produites par un même microbe, plus ou moins virulent et plus ou moins adapté aux différentes races d'animaux, nous paraissent présenter assez d'importance pour que nous les fassions connaître avec quelques détails.

## I

### CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES PASTEURELLA

Lignières a réuni sous le nom de Pasteurelloses tout un groupe de septicémies hémorragiques, dont l'agent causal serait un microbe ayant, à part la spécificité pathogénique, tous les caractères essentiels du coccobacille du choléra des poules.

Le type microbien est celui du genre *Pasteurella*, de Trévisan. Les caractères ont été donnés par Lignières d'une façon assez précise dans les termes suivants<sup>1</sup> : « Coccobacilles, sans

1. LIGNIÈRES, *Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorragiques*, Buenos-Ayres, 1900, p. 8.

mouvement de translation, ne prenant pas le Gram, très polymorphes, donnant des formes d'involution, ne liquéfiant pas la gélatine, ne coagulant pas le lait dont la réaction reste normale, ne donnant pas de culture visible sur la pomme de terre naturelle acide, ni d'indol dans le bouillon pancréatique, ne rougissant pas la gélose de Würtz, surtout aérobies, mais aussi anaérobies, présentant une odeur *sui generis* dans les cultures. Pas de spores, pas de cils. Virulence très variable, en général grande. Par injection intra-veineuse, affinité spéciale pour les synoviales tendineuses et articulaires. »

Nous n'avons à reprendre à ce tableau que la faculté de vivre en aérobie et en anaérobie. Il est vrai que toutes les pasteurelloses donnent une culture en présence d'une quantité limitée d'oxygène, mais aucune de celles que nous avons étudiées ne peut se passer de ce gaz pour se multiplier. Ce sont des microbes strictement aérobies. Les erreurs d'interprétation de ce genre viennent de l'imperfection des procédés employés pour enlever toute trace d'oxygène. Nous nous sommes servis, dans ce but, d'un procédé qui a été indiqué autrefois par l'un de nous <sup>1</sup>. Il consiste à enlever les dernières traces d'oxygène par la vie d'un microbe, le *bacillus subtilis*. C'est un procédé physiologique beaucoup plus parfait que ceux que l'on emploie habituellement, et beaucoup plus pratique. L'appareil se compose d'un tube double à deux effilures, de Pasteur, auquel a été soudé un ballon de verre, muni également d'une effilure. L'appareil étant stérilisé, on aspire aseptiquement dans l'une des branches une petite quantité du microbe à étudier; dans l'autre, du liquide propre à sa culture, et dans le ballon, du bouillon neutre, additionné de *bacillus subtilis*. On ferme l'appareil à la lampe et on le met à l'étuve. Le *bacillus subtilis* cultivé dans le ballon, absorbe l'oxygène, et, après quelques jours, 5 ou 6 ordinairement, le vide d'oxygène est complet; le ballon a joué, pour l'oxygène, le rôle d'une pompe à vide. A ce moment, on fait passer une goutte de la branche à microbe dans la branche à bouillon, pour ensemercer cette dernière. Les microbes anaérobies se développent très bien; les microbes purement aérobies ne donnent aucune culture; leur dévelop-

1. CH. CHAMBERLAND, Thèse de doctorat, *Annales de l'École normale supérieure*, année 1879, p. 88.



pement part dès qu'on casse l'effilure supérieure de l'appareil pour laisser rentrer une petite quantité d'air.

Par ce procédé, nous avons constaté que les diverses pasteurella, la bactéridie charbonneuse, les levures alcooliques, etc., sont des aérobies stricts, tandis que le vibrion septique de Pasteur, le bacille de hog-cholera et celui du rouget sont anaérobies (bien que ces deux derniers poussent parfaitement à l'air).

Nous ajouterons comme caractères bien définis des pasteurella : développement en bouillon à toutes les températures comprises entre 15° et 42-43° (limite supérieure); mort de cultures jeunes en tubes scellés après immersion pendant 18-20 minutes (au moins) à 50° ou 5 minutes à 55°.

Les microbes trouvés dans les diverses pasteurelloses, et considérés, aujourd'hui, comme les agents de ces maladies, ont tous ces caractères. Ils constituent un groupe si homogène que Hüppe, étudiant, en 1886, la Wildseuche, la Schweineseuche, le choléra des poules et la septicémie des lapins, les a considérées comme dues à un seul et même microbe, la bactérie ovoïde, produisant chez les différentes espèces animales une infection : la septicémie hémorragique <sup>1</sup>.

Pour Lignières <sup>2</sup>, le genre pasteurella comprend au moins six variétés différentes par leur pouvoir pathogénique, susceptibles d'être modifiées de façon à constituer des variétés intermédiaires, sans cependant pouvoir être confondues; ce sont : la pasteurella aviaire, la pasteurella porcine, la pasteurella bovine, la pasteurella ovine, la pasteurella équine et la pasteurella canine.

Wassermann et Ostertag sont allés beaucoup plus loin dans la différenciation des types; pour eux, dans la seule pasteurella porcine de Lignières, ou *bacillus suissepticus*, il y a pour ainsi dire autant de races que de districts infectés de pasteurellose porcine ou Schweineseuche. Ces races ne se distinguent absolument que par la façon dont elles sont influencées *in vivo*, par un sérum donné. Un sérum efficace contre la race de *bacillus suissepticus* qui a servi à le produire peut être sans action sur un microbe authentique, extrait de porc atteint de Schweine-

1. HUPPE, *Berliner klinische Wochenschrift*, t. XXIII, 1886, p. 753 et 791.

2. LIGNIÈRES. *Loc. cit.*, p. 204.

seuche. De cette constatation, les auteurs ont conclu à la nécessité de la polyvalence du sérum à préparer contre cette maladie. Ils pensent arriver à obtenir un sérum d'autant plus généralement actif qu'ils auront pu se servir, pour sa préparation, d'un plus grand nombre de races, c'est-à-dire de *bacillus suisepiticus* tirés de centres d'épidémie plus nombreux et plus divers <sup>1</sup>.

## II

### RAPPORTS DES DIVERSES PASTEURELLA D'APRÈS L'ÉTIOLOGIE DES PASTEURELLOSES

Le rôle étiologique des pasteurella n'est pas complètement éclairci. Beaucoup d'auteurs les ont trouvées « très répandues dans le milieu extérieur... dans les eaux, sur les végétaux, dans le tube digestif des animaux sains... Parasites occasionnels d'abord, les pasteurella peuvent s'accoutumer peu à peu à cette vie parasitaire nouvelle et se montrer de plus en plus aptes à créer de nouvelles infections <sup>2</sup> » (Nocard). Mais si ce passage de l'état saprophytique à l'état parasitaire, formulé ainsi par Nocard, existe, il paraît cependant bien établi que les pasteurelloses les mieux connues au point de vue étiologique, la septicémie des lapins, le choléra des poules, la pneumonie contagieuse des pores, n'apparaissent guère en dehors de la contagion.

D'ailleurs, avant d'affirmer la spontanéité d'une infection, il faudra prendre garde à cette cause possible d'erreur : à savoir qu'une pasteurellose sévissant sur une espèce animale donnée peut provenir d'une pasteurellose d'espèce différente.

Nocard et Leclainche, dans *Maladies microbiennes des animaux*, citent plusieurs cas de transmission de ce genre. Ainsi, la contagion de la pleuropneumonie septique des veaux et du barbone s'étendrait au porcelet. Le cheval et le mouton contracteraient l'« entequé » en république Argentine (Lignières

1. WASSERMANN et OSTERTAG, *Monatshefte für praktische Thierheilkunde*, XIII Band, 9 und 10 Heft, p. 467, 1902.

WASSERMANN et OSTERTAG, *M. f. p. T.*, XV Band, 3 und 4 Heft, p. 97, 1903.

WASSERMANN et OSTERTAG, *Zeitschrift für Hygiene*, septembre 1904, p. 416.

2. NOCARD. Les Pasteurelloses. Leçon faite à l'Institut Pasteur. *Revue générale de Médecine vétérinaire*, t. II, 1903, p. 188.



et Nocard). Lignières observe que la « transmission de la pasteurella ovine au bœuf est un fait positif » qu'il constate plusieurs fois chez les bovidés adultes et les veaux<sup>1</sup>. Il constate également « des cas authentiques de transmission naturelle de pasteurella porcine à la poule<sup>2</sup> ».

Deux cas très nets de transmission de pasteurellose de la poule au porc sont relatés par George, vétérinaire à Gotha (Allemagne)<sup>3</sup>.

Le premier concerne deux porcs morts en 48 heures, à l'hospice de Gotha, avec les bacilles typiques de la Schweineseuche dans le sang et les organes; tous les porcs de l'établissement sont malades. Cette maladie était inconnue dans les environs et les porcs étaient bien portants, à l'hospice, depuis plusieurs mois. Mais, quelque temps auparavant, les poules de la maison avaient été détruites par le choléra des poules, et elles étaient mortes dans la cour même où les porcs étaient parqués.

Le second cas est observé dans une ferme proche de la ville, où meurent, en 2 jours, 10 porcs adultes sur 12. Les 2 survivants sont immédiatement vendus à un boucher. George, appelé à la ferme, autopsie les cadavres et acquiert la certitude qu'il s'agit de Schweineseuche. Le vétérinaire de l'abattoir, non prévenu, saisit, dans la même journée, les deux autres porcs qui montrent la présence du coccobacille typique dans leurs organes. A cette époque, aucune maladie contagieuse ne sévit sur les porcs de la région; mais la fermière apprend au vétérinaire que, dans les derniers temps, 50 à 60 poules sont mortes avec somnolence, crête noire, diarrhée, et qu'elles sont précisément allées mourir dans la paille des étables à porcs. Malgré les conseils de George, les fermiers ne font aucune désinfection; même, la litière des porcs morts est ramassée et portée dans une cour où sont les oies de la ferme. Le lendemain matin, la moitié de celles-ci sont mortes, les autres succombent toutes dans la journée. A l'autopsie, les organes et le contenu intestinal contiennent en abondance un microbe tout à fait semblable au bacille du choléra des poules.

1. LIGNIÈRES, *Loc. cit.*, p. 169.

2. LIGNIÈRES, *Loc. cit.*, p. 41.

3. GEORGE, *Berliner Tierarztlische Wochenschrift*, 1904, p. 3.

De notre côté, nous avons été en présence d'un cas semblable de contagion. Un agriculteur des environs de Paris nous apporta, un jour de l'année dernière, 2 poules dans lesquelles il fut facile de mettre en évidence une pasteurella. Les poules de sa ferme mouraient lentement, une à une, avec les symptômes du choléra des poules. L'épizootie avait débuté à la suite de l'introduction dans la ferme de 4 jeunes porcs, dont 2 présentèrent quelques jours après des signes si manifestes de maladie qu'ils furent abattus. Les poules allaient picorer dans la porcherie; elles étaient saines avant l'arrivée des porcs et aucune basse-cour des environs n'était atteinte de choléra. Il est à peu près certain que les poules avaient été contagionnées par les deux porcs malades.

Toutes ces observations conduisent à penser qu'une pasteurellose d'une espèce animale donnée peut faire naître une pasteurellose sur une espèce différente.

En passant d'une espèce à l'autre, une pasteurella acquiert, en effet, un pouvoir pathogénique nouveau. C'est ce qu'il est possible de reproduire expérimentalement.

### III

#### PASSAGES D'UN TYPE DE PASTEURELLA DANS UN AUTRE TYPE

La pasteurella porcine virulente, à sa sortie du porc, tue d'emblée le pigeon et les petits oiseaux, mais se montre beaucoup moins funeste à la poule. D'après les résultats de nos expériences, on peut considérer une mortalité de 1 poule sur 2 inoculées, comme une moyenne; mais il est facile d'augmenter cette virulence du microbe de porc pour la poule.

Partant du microbe qui ne tue qu'une poule sur deux, après quelques passages par cobayes inoculés sous la peau, nous avons tué de jeunes poussins dont le sang a donné un virus mortel à coup sûr pour la poule. En essayant de remonter la virulence seulement par la poule, nous n'avons pas réussi, peut-être n'avons-nous pas tenté assez d'essais.

Ainsi, le 20 janvier 1904, 4 poules reçoivent chacune dans le pectoral gauche 1/8 de c. c. de culture de past. porcine virulente. Le n° 1 meurt en



4 jours, le n° 2 en 11 jours; elles ont toutes deux le sang rempli de coccobacilles. Les n°s 3 et 4 résistent. La culture du sang de la poule 1 est inoculée le 26 janvier à 2 poules nouvelles dont l'une résiste; l'autre meurt 5 jours après l'inoculation. La culture du sang de cette poule de 2<sup>e</sup> passage est inoculée, toujours à la dose de 1/8 de c. c., le 1<sup>er</sup> février, à 2 poules, qui paraissent abattues pendant 2 jours, mais qui se remettent et résistent.

Au lieu d'acquérir une virulence plus grande, le microbe se serait plutôt même atténué.

Notre virus de pasteurellose porcine était entretenu par des passages par cobayes inoculés sous la peau. De sorte qu'en avril 1904, le virus employé ne différait de celui de l'expérience précédente que par deux ou trois passages par cobayes.

Le 20 avril, 4 poussins âgés de 15 à 20 jours sont inoculés dans le pectoral par 1/8 de c. c. de culture sang de cobaye; 3 meurent après 15 heures, le 4<sup>e</sup> après 24 heures. Le sang du poussin mort le premier est inoculé, à la dose de 1/8 de c. c., dans le pectoral d'un coq adulte, le 21; ce coq meurt 20 heures après l'inoculation, avec le sang très riche en microbes typiques. Deux poules reçoivent, toujours dans le muscle, 1/8 de c. c. du sang du coq; elles sont trouvées mortes respectivement après 36 heures et 41 jours. Le sang de ces poules, conservé à la glacière, en ampoules, a toujours donné des cultures mortelles pour la poule.

De sorte qu'une pasteurella porcine paraissant bien fixée dans son pouvoir pathogénique pour la poule, comme le montre l'expérience du 20 janvier, est devenue une véritable pasteurella aviaire.

Mais la modification de la virulence acquise par d'autres pasteurella est encore plus nette. Nous avons amené celle du mouton, au début tout à fait inoffensive pour la poule, à l'état de véritable virus de choléra des poules.

Le microbe employé, comme la plupart de ceux étudiés ici, provient de la collection de l'Institut Pasteur conservée avec tant de soin par M. le Dr Binot, et avait été donné par M. Lignières. L'expérience suivante donne la mesure de son activité au moment où nous avons commencé son étude.

Le 12 mars 1904, une culture de 24 heures en bouillon est inoculée, à raison de 1/4 de c. c., dans le pectoral de 4 poules, — et de 1/8 de c. c., sous la peau du flanc de 2 lapins et de 2 cobayes. Les poules ne paraissent pas malades, et elles supportent de même une inoculation de 1 c. c. de culture du même virus, le 27 avril suivant. Les 2 lapins meurent après

36 heures et 3 jours, avec le sang, le foie et la rate bourrés du coccobacille inoculé. Des 2 cobayes, l'un résiste, avec élimination du virus par un abcès, et l'autre est trouvé mort 9 jours après l'inoculation, avec de nombreux microbes dans le sang du cœur.

Dans le but de modifier le pouvoir pathogénique de cette pasteurella du mouton, nous faisons, à partir du 16 mars, une série de passages par lapins. A chaque passage, c'est le sang du dernier lapin mort, pris dans le cœur, qui est inoculé, à la dose de 1/8 de c. c., sous la peau du flanc du lapin suivant. Dès les premiers passages la mort survient après 45 heures, puis après 12 heures, et jusqu'au 32<sup>e</sup> passage, le dernier que nous ayons fait, les animaux meurent entre la 11<sup>e</sup> et la 12<sup>e</sup> heure.

Le 7 novembre, la culture de ce virus de 32<sup>e</sup> passage est essayée sur des poules et des lapins dans l'expérience suivante :

Le 8 novembre, 6 poules et 4 lapins reçoivent la culture citée : les 2 poules à la dose de 1 c. c. dans le pectoral, 2 lapins à la dose de 1/8 de c. c. sous la peau du flanc; les 2 autres ont seulement les narines mouillées avec un tampon de ouate.

Les 6 poules meurent en 30-36 heures avec beaucoup de microbes dans le sang et les organes. Les deux lapins inoculés meurent en 12 heures et les deux autres en 36 heures et 16 jours. Le dernier de ces lapins, mort ardivement, a succombé à une véritable pneumonie, analogue à celle de la forme chronique de la septicémie spontanée du lapin.

Après 32 passages par lapins, la pasteurella ovine se trouve avoir exactement le pouvoir pathogène du choléra des poules, pour les animaux de laboratoire; et aucun caractère ne permet plus de distinguer entre eux ces deux virus.

M. Guérin considère comme agent de la diphtérie des volailles une pasteurella qu'il a isolée de fausses membranes symptomatiques<sup>1</sup>. Quoique retirée de la poule, cette variété de pasteurella se distingue nettement du microbe du choléra par son incapacité à acquérir une virulence suffisante pour tuer la poule par septicémie. Et en effet, le microbe virulent, que M. Guérin a eu l'amabilité de nous faire parvenir, ne paraît pas rendre la poule malade, inoculé, en culture, à la dose de 4 c. c. dans les muscles pectoraux. Même, contrairement à

1. GUÉRIN, *Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1901, p. 941.



toutes les autres, par passages successifs sur le lapin, cette pasteurella aurait la propriété de s'atténuer, aussi bien pour le lapin que pour le pigeon; après le 24<sup>e</sup> passage, M. Guérin ne tue plus le lapin qu'en 4 à 5 jours, au lieu de 48 heures à la première inoculation <sup>1</sup>.

Depuis son mémoire de 1901, M. Guérin a dû réussir à modifier cette curieuse propriété, car le virus qu'il nous a donné se comporte comme toutes les autres pasteurella, c'est-à-dire qu'il acquiert très facilement et très vite une grande virulence pour le lapin. 3 passages par cet animal, précédés de 3 passages par pigeons, ont suffi à élever la virulence à un degré tel que le lapin ne survit que 10 à 12 heures à l'inoculation.

La pasteurella de la diphtérie aviaire a donc un pouvoir pathogène calqué à peu près exactement sur celui de la pasteurella du lapin. Nous nous sommes alors demandé si cette dernière, employée suivant la technique de M. Guérin, donnerait un tableau pathologique ressemblant à celui qu'il obtient en inoculant son microbe dans le tissu conjonctif de la paupière inférieure du pigeon. Or nous avons obtenu, avec le microbe authentique de lapin, des fausses membranes typiques sur la cornée, à l'entrée des narines et dans le pharynx. Mais ces fausses membranes ne sont nettes que si la mort survient un peu tardivement : 2 pigeons morts en 7 jours les présentaient fort abondantes, tandis qu'un pigeon de la même série, mort en 3 jours, n'en portait presque pas.

Cette propriété de donner des fausses membranes est générale pour toutes les pasteurella, lorsque les animaux peuvent survivre quelques jours à l'infection.

La pasteurella isolée par M. Guérin dans la diphtérie aviaire ne se sépare donc pas des autres variétés; elle pourrait peut-être même être confondue avec celle du lapin.

#### IV

#### VACCINATION PAR UNE PASTEURILLA CONTRE UNE AUTRE PASTEURILLA

Les modifications expérimentales de la virulence que nous venons d'examiner montrent déjà ce que vaut le seul caractère

1. GUÉRIN, *Loc. cit.*, p. 943.

distinctif des pasteurella entre elles : le pouvoir pathogène.

L'étude de l'immunité conférée à un organisme par l'une d'elles à l'égard des autres apporte une preuve plus frappante encore de la parenté très étroite de ces divers microbes.

Jensen <sup>1</sup> avait déjà montré que les poules qui ont été inoculées avec la bactérie de la pleuropneumonie septique des veaux possèdent l'immunité contre le choléra des poules. Kitt <sup>2</sup>, dans des publications récentes, montre que des lapins immunisés contre le *B. suisepiticus* le sont également contre le microbe des poules.

Nous avons été amenés à cette étude des immunités réciproques conférées par les différentes pasteurella lorsque nous avons eu des animaux de laboratoire bien vaccinés contre l'une d'elles. Nos premières recherches avaient porté presque exclusivement sur le microbe de la Schweineseuche ou pneumonie des pores. Dès le mois de mars 1903, nous savions vacciner le lapin contre la pasteurella porcine expérimentale, tuant les témoins en moins de 12 heures. Car, contrairement aux conclusions de Voges <sup>3</sup>, il est possible de vacciner contre la pasteurella aviaire ou la pasteurella porcine, et solidement même, des animaux très sensibles, comme le lapin. Il est évidemment très difficile d'obtenir des vaccins à la fois assez inoffensifs et suffisamment immunisants. Mais par toutes les méthodes connues d'atténuation, il est possible avec de la patience, d'obtenir de bons vaccins vivants. Notons en passant que l'atténuation peut être poussée si loin que le microbe est devenu un véritable saprophyte, incapable de tuer de très jeunes souris par inoculation intra-péritonéale.

Les mêmes microbes, tués par divers procédés, peuvent donner également une immunité non douteuse aux animaux de laboratoire auxquels ils sont inoculés.

Les expériences suivantes montrent l'immunité très nette que l'on peut conférer au lapin par des vaccins vivants; elles prouvent, en outre, qu'un animal vacciné contre la pasteurella porcine l'est également contre le choléra des poules.

1. JENSEN, *Monatshefte für Thierheilkunde*, t. II, 1890, p. 1.

2. KITT, *Monatshefte f. T.*, 20 avril 1905, p. 461.

3. VOGES, *Zeitschrift für Hygiene*, B. 23, p. 459.



Le 20 juin 1903, 2 lapins de 2,380 grammes et 2,330 grammes sont inoculés sous la peau du flanc gauche par un premier vaccin, à la suite duquel ils ont tous deux un œdème du volume d'une grosse noix. Un mois après, ils pèsent 2,710 grammes et 2,180 grammes; ils sont réinoculés par un second vaccin sous la peau du flanc droit. Ce second vaccin ne détermine chez les 2 lapins qu'une réaction locale insignifiante. Les 2 animaux augmentent de poids; au 1<sup>er</sup> août, ils arrivent aux chiffres respectifs de 2,880 grammes et 2,350 grammes. A ce moment, les œdèmes causés par le premier vaccin ont disparu par résorption. Une nouvelle inoculation est alors faite sous la peau du flanc droit avec 1/8 de c.c. de culture de pasteurella porcine virulente. Un lapin témoin, qui subit cette même inoculation, meurt après 15 heures; les 2 lapins vaccinés ne paraissent pas malades, mais tous deux ont des œdèmes, 24 heures après l'injection; chez le premier, l'œdème grossit jusqu'à atteindre la taille d'une très forte noix, puis reste stationnaire; chez l'autre, l'œdème de même grosseur s'ouvre en abcès qui se cicatrise ensuite. Au 24 septembre, près de 2 mois après l'inoculation virulente, l'œdème du premier n'est pas entièrement résorbé, et l'abcès du second non complètement fermé; mais les 2 animaux pèsent 3,400 grammes et 2,879 grammes. Ils sont alors réinoculés une seconde fois, à gauche, cette fois-ci, par 1/8 de c.c. de virus virulent tuant le témoin en 12 heures. La réaction locale est à peu près nulle; le premier lapin se maintient au poids de 3,400 grammes; le second perd, en un mois, 200 grammes, qu'il reprend peu à peu. Les deux lapins sont dès lors solidement vaccinés.

A la fin de l'année 1903, les résultats heureux obtenus sur les poules par des inoculations préventives de pasteurella porcine nous engagent à tenter l'épreuve inverse sur des lapins vaccinés contre le microbe de porc.

Le 18 décembre, les 2 lapins dont nous venons de suivre l'immunisation, et 2 lapins neufs sont inoculés chacun par 1/8 de c.c. de culture de 24 heures de bacille du choléra des poules. Les 2 témoins succombent en moins de 15 heures; les 2 immunisés ne paraissent pas malades. Les jours suivants, ils ont un peu d'œdème au point d'inoculation, mais ils augmentent de poids. Le 16 janvier, ils n'ont, au point d'inoculation du dernier virus, qu'une petite induration sous-cutanée de la grosseur d'une noisette. Ils continuent à bien se porter, et supportent ultérieurement plusieurs injections de pasteurella porcine virulente.

Cette suite d'inoculations prouve surabondamment la possibilité d'une vaccination solide contre les pasteurella, et elle montre en outre que l'immunité contre l'une d'elles est valable contre une autre. Car cette résistance des lapins vaccinés par la pasteurella porcine contre la pasteurella aviaire n'est pas

une exception tenant, soit à l'espèce animale (lapin), soit aux relations particulières pouvant exister entre ces deux variétés de pasteurella.

Les poules ayant subi, sans en périr, des inoculations du microbe du porc, peuvent être vaccinées ainsi contre le choléra des poules; cette immunisation est même beaucoup plus facile que chez le lapin. Voici l'une des premières expériences que nous ayons tentées dans cette voie.

Le 10 juin 1903, 4 poules sont inoculées par 1/8 de c. c. de culture de virus de porc; leurs poids sont alors: n° 1, 1,760 grammes, n° 2, 1,359 grammes, n° 3, 2,160 grammes, n° 4, 1,250 grammes. Le n° 2 meurt en 3 jours et demi; les 3 autres sont visiblement éprouvées: 13 jours après, le n° 1 ne pèse plus que 1,560 grammes, le n° 3, 1,910 grammes, le n° 4, 1,400 grammes. Malgré cet amaigrissement, les 3 poules survivantes sont réinoculées le 23 juin par 1/4 de c. c. d'une nouvelle culture du même virus. Les n°s 1 et 3 continuent à maigrir jusqu'au 3 juillet, où elles ne pèsent que 1,470 et 1,690 grammes, la 4<sup>e</sup> se maintient à son poids de 1,400 grammes. A ce jour, elles sont réinoculées toutes trois par 1 c. c. du même virus; 14 jours plus tard, les 3 poules sont éprouvées par une inoculation de 1/8 de c. c. de culture de pasteurella aviaire virulente, dans le pectoral, en même temps qu'une poule témoin. Celle-ci meurt en 50 à 60 heures: des 3 vaccinées, la poule n° 1 est très éprouvée: elle se met en boule, refuse de manger et se cachectise; le 28 juillet, 11 jours après, elle ne pèse que 970 grammes, elle meurt du 29 au 30; les poules n°s 3 et 4 supportent très bien l'inoculation virulente; elles augmentent de poids; au 28 juillet elles pèsent 1,680 et 1,380 grammes, et au 10 août 1,730 et 1,420 grammes. A cette dernière date, elles sont de nouveau éprouvées par 1/8 de c. c. de culture de pasteurella aviaire virulente, qu'elles supportent parfaitement. Ultérieurement, elles résistent à plus de dix inoculations de doses croissantes de coccobacille du choléra des poules.

Citons encore l'expérience suivante, qui conduit aux mêmes résultats:

Le 8 février 1905, 4 poules reçoivent dans le pectoral 1/4 de c. c. de culture d'une race de *B. suis* septicus, envoyée à la collection de l'Institut Pasteur par M. Wassermann. Le 20 du même mois, ces 4 poules sont inoculées une seconde fois par 1/8 de c. c. d'une culture très virulente d'une autre race du même bacille (origine Preisz). Elles supportent bien ces deux inoculations. Au 22 mars, l'immunité qu'elles ont dû acquérir est éprouvée par l'inoculation à chacune d'elles de 1/8 de c. c. de pasteurella aviaire virulente. 2 poules neuves, qui reçoivent en même temps la même dose de virus, meurent en 3 jours; l'une des 4 poules traitées succombe aussi, en 2 jours; les 3 autres résistent. Elles sont bien vaccinées, car elles supportent encore 1/8 de c. c. de choléra virulent le 5 avril, tandis que 2 poules témoins périssent en 36 heures.



Toutes ces poules, comme les lapins cités plus haut, sont immunisées contre la pasteurella aviaire, et cette immunité leur a été conférée par une pasteurella différente, celle du porc.

Nous disions plus haut que cette vaccination contre le virus du choléra des poules par celui de la pneumonie des porcs ne tenait pas à une parenté plus étroite entre ces deux variétés du même groupe : on peut en effet vacciner contre le choléra des poules au moyen de toutes les pasteurella. Celle du lapin, que nous avons isolée d'une maladie spontanée, peut être considérée comme un bon vaccin de choléra des poules. Kitt<sup>1</sup> a lui aussi signalé le fait. D'après Lignières, le lapin n'aurait « pas une pasteurellose qui lui soit propre. Naturellement ou expérimentalement, cet animal peut s'infecter avec toutes les pasteurella ». Le microbe que nous avons isolé d'une rhinite contagieuse sévissant sur des lapins apportés à l'Institut Pasteur appartenait-il à une variété de pasteurella soit porcine, soit bovine, soit ovine ou autre ? Nous n'avons pas pu le vérifier ; mais, sûrement, il n'était pas du type aviaire, comme l'entend Lignières. Inoculée à la poule à la dose de 5 c. c. dans le péritoine, la culture en bouillon de ce microbe ne la rend pas même malade. Cette même culture tue 1 pigeon sur 2 (moyenne) à la dose de 1/8 de c. c. dans le pectoral.

Ce virus de lapin, si inoffensif pour la poule, la vaccine très nettement contre le choléra des poules. Voici, entre autres, quelques expériences qui le prouvent bien.

Le 24 mai dernier, 4 poules sont inoculées par 1/4 de c. c. de culture de septicémie du lapin ayant fait 7 passages par cobaye. 9 jours après, 2 de ces poules sont inoculées une seconde fois par 1/4 de c. c. de culture du cobaye de 14<sup>e</sup> passage ; les 2 autres ne sont pas réinoculées. Le 14 juin, ces 4 poules et 2 poules témoins reçoivent 1/8 de c. c. de culture de choléra des poules virulent dans le pectoral. Des 2 témoins, l'une meurt en 12 heures ; l'autre prend la maladie chronique, se cachectise et meurt 2 mois après.

Les 2 poules n'ayant reçu qu'une fois de la pasteurella du lapin meurent également, l'une en 10 jours, l'autre après 3 mois 1/2, par cachexie. De celles inoculées 2 fois par le microbe de lapin, l'une résiste et supporte une nouvelle inoculation virulente le 7 novembre ; l'autre meurt en bon état sans avoir paru malade, le 28 octobre suivant, après 4 mois et 14 jours ; son sang ne donne aucune culture ; elle n'est pas morte des suites de l'inoculation d'épreuve.

1. KITT. Septicémie hémorragique pluriforme, dans le t. II du *Traité de bactériologie* Kolle et Wassermann.

### Encore une expérience sur le même sujet :

6 poules sont inoculées dans le pectoral gauche, le 10 octobre dernier, par 1 c. c. chacune de culture de *pasteurella* du lapin. Elles sont réinoculées le 23 par 1 c. c. de culture du même virus dans le pectoral droit. Elles sont ensuite éprouvées, le 7 novembre, par 1/8 de c. c. de culture de choléra des poules très virulent, tuant 4 poules témoins à la dose de 1/1000 de c. c. en 36 heures, 40 heures, 48 heures et 60 heures. 3 sur 6 succombent à cette épreuve très sévère ; elles sont trouvées mortes le 10 novembre au matin ; les 3 autres résistent très bien.

4 poules d'une autre série ont été vaccinées, aux mêmes dates, par les mêmes doses des mêmes vaccins ; mais, de même que les 4 poules témoins, celles de cette série ne reçoivent que 1/1000 de c. c. de virus de *pasteurella* aviaire à l'inoculation d'épreuve. Une seule meurt en 36 heures ; les 3 autres survivent et vont bien jusqu'à ce jour.

Aucun amaigrissement n'est constaté chez les 3 poules restant de la 1<sup>re</sup> série, ni sur celles de la 2<sup>e</sup> série.

Voici enfin une 3<sup>e</sup> expérience, montrant que le sang d'un animal mort par la *pasteurella* du lapin vaccine mieux que la culture du même sang.

Le 7 juin 1903, 2 poules sont inoculées dans le pectoral, chacune par 1/2 c. c. de sang d'un cobaye de 17<sup>e</sup> passage de septicémie du lapin. Le lendemain, 2 autres poules reçoivent 1/2 c. c. de la culture du même sang. Aucune de ces poules n'est malade les jours qui suivent. Le 20 juin, elles sont éprouvées en même temps qu'une poule témoin par 1/8 de c. c. de culture de *pasteurella* aviaire virulente. Le témoin succombe en 36 heures ; les 2 poules inoculées par la culture meurent également, en 36 heures et 60 heures : les 2 autres ayant reçu le sang de cobaye résistent ; elles étaient vaccinées.

Cette différence entre le pouvoir immunisant du sang et celui de la culture n'est pas toujours aussi nette, mais elle est constante.

On pourrait peut-être encore penser que ce coccobacille extrait du lapin est trop voisin de celui du choléra des poules, dont il ne serait qu'une variété atténuée pour la poule. Mais répétons la même expérience avec l'une des *pasteurella* qui seraient, d'après Lignières, le plus nettement différenciées de la *pasteurella* aviaire, celle du cheval, et celle même que Lignières a procurée à la collection de l'Institut Pasteur.

Le 11 mars 1904, 4 poules sont inoculées, chacune dans le pectoral, par 1/4 de c. c. de culture de 24 heures de *pasteurella* équine virulente ; aucune



n'est affectée par cette inoculation. Une 2<sup>e</sup> injection de 1 c. c. dans le pectoral opposé, pratiquée sur ces 4 poules le 27 avril suivant, ne paraît pas les toucher davantage. Le 13 mai, elles sont alors éprouvées, en même temps que 2 poules témoins, par 1/8 de c. c. de culture de choléra virulent. Les 2 poules témoins meurent en 36 heures et 60 heures; l'une des 4 poules préalablement inoculées de pasteurella équine succombe également en 60 heures; mais les 3 autres résistent et supportent ultérieurement d'autres inoculations de pasteurella aviaire virulente. Elles sont bien vaccinées.

Voilà donc la pasteurella équine, plus éloignée du virus du choléra des poules que la pasteurella du lapin, car elle ne tue pas même le pigeon d'emblée, et difficilement les petits oiseaux, qui vaccine à peu près aussi solidement contre la pasteurella aviaire.

Nous pouvons citer d'autres exemples de vaccinations de pasteurella l'une par l'autre.

Les lapins vaccinés contre le microbe de la pneumonie des porcs supportent impunément l'inoculation du virus de septicémie du lapin, mortelle pour les témoins.

Le 25 mai 1903, 4 lapins bien vaccinés contre la pasteurella porcine (ayant subi outre les vaccins, au moins une inoculation virulente) et 2 lapins neufs sont inoculés par 1/8 de c. c. de culture de pasteurella du lapin, sous la peau. Les 2 témoins meurent, l'un dans la nuit du 26 au 27, l'autre dans la nuit du 27 au 28. Les 4 lapins vaccinés contre le microbe de porc ont un peu d'œdème au point d'inoculation pendant les jours qui suivent, mais l'inoculation ne laisse aucune trace au 14 juin.

Nos dernières expériences viennent de nous montrer que l'immunité du lapin vacciné contre la pasteurella porcine s'étend aussi à la pasteurella trouvée par M. Guérin dans la diptérie aviaire.

Le 14 décembre dernier, 2 lapins neufs et 2 lapins vaccinés contre le microbe de porc sont inoculés sous la peau par 1/8 de c. c. de sang d'un lapin mort par la pasteurella de Guérin. Les 2 lapins neufs meurent en 12 heures et 15 heures, tandis que les 2 lapins vaccinés résistent avec un léger œdème au point d'inoculation.

Toute cette suite d'exemples est suffisante pour prouver que l'immunité active, acquise par un animal sensible contre une variété de pasteurella, s'étend aux autres.

Elle n'est évidemment pas également complète vis-à-vis de

toutes, car il n'y a pas identité entre toutes les pasteurella, mais elle suffit à montrer que toutes proviennent d'un seul microbe ayant acquis des propriétés pathogènes, des qualités virulentes, une « physionomie pathologique » variable, en partie fixées par une longue suite de passages chez les différentes espèces animales.

L'étude des propriétés d'un sérum spécifique montre la grande variabilité de ces qualités acquises.

## V

### PROPRIÉTÉS D'UN SÉRUM PRÉPARÉ AVEC UNE SEULE PASTEURELLA

Pour produire un sérum antipasteurellique, nous nous sommes adressés au cheval, que nous n'avons pas eu de peine à bien immuniser. Les inoculations ont toujours été faites sous la peau. Craignant les accidents que plusieurs bactériologistes avaient éprouvés au cours d'immunisations semblables, les vaccins employés d'abord étaient tout à fait inoffensifs, même pour le lapin. La première inoculation de vaccin eut lieu le 26 avril 1904; 5 vaccins de virulence graduée furent donnés, sans jamais provoquer ni réaction thermique sensible ni œdème. Un virus moyennement virulent fut injecté pour la première fois, à 10 c. c., le 7 juin; une réaction thermique de 1° pendant la soirée du même jour et un peu d'œdème vite résorbé en furent les seules conséquences. Quatre inoculations de ce virus furent faites jusqu'aux vacances de 1904, sans provoquer d'œdème, mais il y eut chaque fois une élévation sensible de la température (0°,5 à 1°).

Le 14 octobre, les injections de virus sont reprises; on se sert d'un virus plus virulent de même origine (Preisz). Il n'y a toujours pas d'œdème, mais la température monte vers 40°, et ne redescend aux environs de 38° qu'après 3 ou 4 jours.

Le 6 décembre, on commence les inoculations du virus le plus virulent que nous ayons alors. Il se forme, au point de la piqûre, un petit œdème dur qui s'ouvre quelques jours après, et la température monte à 40°. Du 6 décembre 1904 au 15 juin 1905, 11 inoculations de virus très virulent sont pratiquées; chaque fois, la température monte entre 39 et 40°, et il se produit, au



niveau de la piqûre, un petit œdème mou qui se résorbe en 3 ou 4 jours; 3 fois seulement, l'œdème s'est transformé en un petit abcès vite cicatrisé.

Ce cheval, qui avait reçu en tout 1,165 c. c. de virus virulent, de la seule origine Preisz. paraît subitement très malade le 9 juillet au matin; il a 40°,2 de température; il meurt à midi. A l'autopsie, on reconnaît que la cause de la mort est une hémorragie du foie, lequel est réduit en véritable bouillie.

Il avait été saigné 3 fois : le 7 février à 2 litres; le 4<sup>er</sup> mars à 4 litres, et le 28 juin à 4 litres.

1. *Propriétés agglutinantes du sérum.* — Il est tout d'abord intéressant de voir comment se comporte ce sérum, produit par une seule race de pasteurella, au point de vue de l'agglutination des cultures de différentes autres races. Le sérum agglutine les cultures à l'état naissant, et les cultures de 24 heures. Les pasteurella employées dans les épreuves d'agglutination sont : la pasteurella porcine envoyée il y a quelques années à l'Institut Pasteur par M. Preisz et qui est celle employée à l'immunisation; 3 autres races de pasteurella porcine, isolées par nous d'épidémies sévissant en Charente, en Eure-et-Loir et en Hongrie; nous leur donnons ci-dessous le nom de leur origine; 3 races données à l'Institut Pasteur par M. Wassermann et conservées à la collection sous les n<sup>os</sup> I, II et III; puis une race de pasteurella aviaire (choléra des poules), une race de pasteurella de diphtérie aviaire (que nous devons à l'obligeance de M. Guérin); enfin, une race de chacune des pasteurella du lapin, du cobaye, du cheval et du mouton.

Voici les résultats obtenus (*examen macroscopique après 12 heures*) :

I. — *Sur cultures de 24 h. en bouillon : rapport : =  $\frac{\text{sérum}}{\text{volume total}}$ .*

a)	Pasteurella porcine	Preisz, limite comprise entre	1/40.000.	et	1/60.000
b)	—	Charente, —	1/100	et	1/1.000
c)	—	Eure-et-Loir, —	pas d'agglutination.		
d)	—	Hongrie, —	—		
e)	—	Wassermann I, limite entre	1/100	et	1/1.000
f)	—	Wassermann II, —	1/1.000	et	1/10.000
g)	—	Wassermann III, —	1/100	et	1/1.000
h)	—	aviaire choléra des poules), —	1/100	et	1/1.000
i)	—	(diphtérie), —	1/2.000	et	1/5.000
j)	—	du lapin, —	1/100.	et	1/1.000

k)	Pasteurella	du cobaye, limite entre.....	1/1.000	et 1/10.000
l)	—	du cheval, — .....	1/10	et 1/100
m)	—	du mouton, — .....	1/1.000	et 1/10.000

## II. Agglutination des cultures faites dans le mélange bouillon-sérum.

a)	Pasteurella	porcine Preisz, limite comprise entre	1/60.000	et 1/80.000
b)	—	— Charente, —	1/400	et 1/600
c)	—	— Eure-et-Loir, —	agglutination nulle	
d)	—	— Hongrie, —	—	
e)	—	— Wassermann I, limite entre	1/200	et 1/400
f)	—	— Wassermann II, —	1/4.000	et 1/6.000
g)	—	— Wassermann III, —	1/200	et 1/400
h)	—	— aviaire (choléra), —	1/400	et 1/600
i)	—	— (diphthérie), —	1/1.000	et 1/1.500
j)	—	— du lapin, —	1/600	et 1/800
k)	—	— du cobaye, —	1/4.000	et 1/6.000
l)	—	— du cheval, —	1/20	et 1/40
m)	—	— du mouton, —	1/1.000	et 2.000

Nous avons vérifié que le sérum normal de cheval n'agglutine aucun de ces microbes à moins de 1/15.

Dans les conditions où nous avons opéré, l'agglutination est beaucoup plus nette dans les cultures en développement que dans les cultures faites; c'est pour cela que nous avons précisé davantage, dans le second tableau, les dilutions entre lesquelles est située la dilution limite agglutinante.

L'examen de ce tableau est très intéressant. Il montre la spécificité très nette du pouvoir agglutinant pour la pasteurella qui nous a servi à l'immunisation. Mais il témoigne également de la parenté étroite qui réunit ces microbes. Le taux de l'agglutination, pour la plupart d'entre eux, est relativement élevé.

Si l'agglutination donnait une idée exacte de la parenté, 2 races au moins devraient être écartées de la famille. Or, ces 2 races sont précisément des pasteurella retirées du porc, comme celle qui a servi à la préparation du sérum. Leur pouvoir pathogène sur les différents animaux de laboratoire a sensiblement la même allure que celle-ci. Et, à part cette différence dans leurs agglutinines, avec peut-être une virulence moindre, toutes leurs propriétés, comme leur origine, tendent à les identifier complètement au type qui a servi à l'immunisation du cheval.



L'agglutination rapproche au contraire de la même race type la pasteurella du cobaye et celle du mouton, que leurs qualités pathogènes feraient plutôt éloigner.

Mais nous avons constaté que la non-agglutinabilité d'un microbe de ce groupe, par un sérum donné, ne peut permettre de le séparer du microbe qui a servi à la préparation du sérum. Nous avons atténué la virulence de la race de pasteurella porcine, inoculée au cheval, pour la transformer en vaccins. Cette pasteurella très virulente, agglutinée par 1/60,000 de sérum, perd très vite son agglutinabilité, plus vite que sa virulence. Les vaccins obtenus, actifs pour l'immunisation des lapins, ne peuvent plus être influencés par le sérum qu'à des dilutions inférieures à 1/20.

L'agglutination seule ne suffit donc pas à mesurer la parenté de divers microbes de ce genre; ce qui ne signifie pas qu'elle ne puisse donner des indications précieuses sur l'étendue de l'activité du sérum, comme le veulent MM. Wassermann et Ostertag.

## 2. — *Action préventive du sérum sur les animaux.*

Le sérum que nous avons obtenu est nettement préventif pour la race de pasteurella qui a servi à le produire. Si l'on compare, au point de vue de leurs propriétés préventives, les sérums de ce même cheval obtenus des saignées du 7 février et du 28 juin, on voit que le premier est aussi actif que le second. A cette première saignée, le cheval n'avait reçu que 715 c. c. de virus virulent au lieu des 1,165 c. c. qui lui ont été inoculés avant le 28 juin.

Voici deux expériences donnant à peu près la moyenne des résultats obtenus avec ces deux sérums :

Le 27 février, on essaye le sérum de la première saignée sur 6 lapins auxquels on l'injecte à la dose de 5 c. c. sous la peau du flanc droit : pour deux, 24 heures avant 1/8 de c. c. de virus inoculé sous la peau de l'autre flanc; pour deux autres simultanément avec une inoculation de la même quantité de virus sous la peau du côté opposé; enfin, pour les deux derniers, mélangé avant l'inoculation à 1/8 de c. c. de la même culture virulente.

2 lapins témoins, inoculés par la culture seule, meurent après 12 heures et 20 heures. Ceux qui ont reçu le sérum meurent aussi, mais avec

des retards notables. Ainsi, c'est après 6 jours  $1/2$  et 9 jours que succombent les deux premiers; 5 jours et 8 jours les deux suivants; et 7 jours et 8 jours les deux derniers.

Soit donc, en moyenne, une survie de 5 à 6 jours sur les témoins.

Les effets du sérum de la troisième saignée ne sont certainement pas meilleurs. Voici une expérience faite suivant le mode précédent :

Injection préventive de 5 c. c. de sérum 24 heures avant  $1/8$  de c. c. de culture virulente sur 3 lapins; ils meurent tous trois en 36 heures, 60 heures et 6 jours  $1/2$ .

Injections consécutives de 5 c. c. de sérum d'un côté et de  $1/8$  de c. c. de virus de l'autre sur 4 lapins; mort de ces 4 animaux après 18 heures, 60 heures, 5 jours  $1/2$  et 5 jours  $1/2$ .

Enfin, injection de 5 c. c. de sérum mélangé à  $1/8$  de c. c. de culture virulente à 4 lapins qui succombent respectivement après 60 heures, 7 jours, 7 jours et 8 jours.

Les 2 lapins témoins, inoculés de culture seulement, meurent en 12 et 15 heures.

Dans ces expériences, nos animaux étaient évidemment soumis à une épreuve extrêmement sévère. Ces virus se multiplient dans l'organisme du lapin avec une rapidité extraordinaire, qu'il est difficile d'empêcher. D'autre part, la dose de  $1/8$  de c. c. est énorme si l'on considère qu'une quantité cent fois plus faible tue aussi vite. De sorte que, chez les lapins traités, les retards obtenus suffiraient à montrer que ce sérum avait un pouvoir préventif très net. Mais, dans quelques cas, nous avons même pu préserver définitivement des lapins aussi durement traités.

Ainsi, le 27 février 1903, 3 lapins reçoivent 5 c. c. de sérum : le 1<sup>er</sup>, 24 heures avant  $1/8$  de c. c. de culture virulente, le 2<sup>e</sup> en même temps que la culture, le 3<sup>e</sup>, ce sérum mélangé d'avance à  $1/8$  de c. c. du même virus. Les 2 lapins témoins meurent en 12 et 20 heures.

Le 1<sup>er</sup>, inoculé de virus le 28, est réinoculé trois fois par 1 c. c. de sérum les 1<sup>er</sup>, 2 et 3 mars, toujours du côté opposé à la piqûre de virus. A ce dernier point, il y a dès le 1<sup>er</sup> mars un œdème qui se résorbe lentement ensuite sans s'ouvrir. Le lapin ne baisse pas sensiblement de poids (49 grammes de perte sur 3,700 grammes) et supporte, le 5 avril d'après, une nouvelle inoculation virulente (tuant le témoin en 12 heures). Il est définitivement et très solidement vacciné.



Les deux autres sont réinoculés 4 fois par 1 c. c. de sérum, les 28 février, 1<sup>er</sup>, 2 et 3 mars; ils succombent néanmoins 5 jours et 7 jours après l'inoculation virulente.

Il ne nous paraît pas douteux que nous aurions eu de meilleurs résultats si nous les avions recherchés en nous contentant d'une épreuve moins sévère.

Contrairement à ce que l'on pouvait attendre, après les observations de MM. Lignières, Wassermann et Ostertag, ce sérum préparé par une seule pasteurella est loin d'être un sérum monovalent. Il s'est montré à peu près aussi préventif à l'égard d'autres pasteurelloses expérimentales, en particulier du choléra des poules et de la septicémie des lapins.

Le 1<sup>er</sup> mars 1905, on injecte 3 lapins à 5 c. c. de sérum sous la peau; le 1<sup>er</sup> ne reçoit le virus, 1/8 de c. c. de culture de bacille du choléra des poules, que le lendemain; le 2<sup>e</sup> est inoculé de virus sous la peau du flanc opposé immédiatement après avoir reçu le sérum; et pour le 3<sup>e</sup>, la culture virulente a été mélangée au sérum avant l'inoculation de celui-ci. Ils meurent malgré le sérum, mais après 7 jours, 8 jours et 10 jours, tandis que le témoin est tué en 18 heures.

Ce sont là des retards analogues à ceux obtenus lorsqu'il s'agissait de la pasteurella porcine avec laquelle a été préparé le sérum.

Sur les poules, l'action préventive du sérum n'est guère moins nette :

Ainsi, tandis que 2 poules neuves meurent en 15' et 22 heures, à la suite d'une inoculation de 1/8 de c. c. de culture virulente dans le muscle pectoral, 2 poules ayant reçu 5 c. c. de sérum sous la peau, 24 heures avant l'injection du même virus, ne meurent qu'en 2 jours 1/2 et 6 jours 1/2.

2 poules reçoivent 5 c. c. de sérum d'un côté et 1/8 de c. c. de virus de l'autre, elles succombent après 40 heures et 4 jours 1/2.

Enfin, de 2 poules qui reçoivent chacune le mélange de 5 c. c. de sérum et de 1/8 de c. c. de la même culture, une seule meurt, après 6 jours; l'autre résiste. Mais, réinoculée 40 jours plus tard de pasteurella aviaire virulente tuant le témoin en 36 heures, elle ne peut résister que pendant 11 jours. Elle n'était pas vaccinée ou avait perdu son immunité.

Injecté préventivement à des lapins inoculés par le microbe de la septicémie du lapin, le sérum de pasteurella porcine a retardé la mort comme dans le cas des inoculations de microbes de porc et de poule. Le virus employé dans l'expérience citée

ci-dessous, et qui nous a été obligeamment donné par M. Bri-dré, ne tue pas aussi vite que ceux examinés précédemment.

L'expérience est du 28 mars 1905; les 2 lapins témoins sont tués par 1/8 de c. c. de culture virulente en 60 heures et en 4 jours.

2 lapins traités 24 heures avant par 5 c. c. de sérum sous la peau, mettent 8 et 9 jours pour mourir.

2 lapins ayant reçu simultanément le sérum et la culture, sous la peau des deux flancs, succombent après 4 jours et 8 jours.

Enfin, le mélange du sérum et du virus, mêmes doses, ne tue les 2 derniers lapins qu'en 7 jours et 8 jours.

Ces deux *pasteurella*, de la poule et du lapin, sont de celles moyennement agglutinées par le sérum. Il y aurait lieu d'examiner ici la corrélation possible entre le taux d'agglutination du sérum, et son action antimicrobienne pour chacune des différentes *pasteurella*. Ce sera l'objet d'un travail ultérieur.

#### CONCLUSIONS

De toutes les expériences que nous venons de citer, résulte clairement qu'il faut renoncer pour l'avenir à différencier les *pasteurella* entre elles. Elle proviennent d'un microbe unique, qui acquiert ou perd assez facilement sa virulence, et qui, par son passage dans le corps de certains animaux, et par son adaptation sur une espèce déterminée, provoque une pasteurellose spéciale à cette espèce. Il découle de ces faits des mesures d'hygiène et de prophylaxie qui doivent s'étendre à toutes les espèces d'animaux réceptifs dans le cas où l'une de ces espèces est atteinte de pasteurellose.

La *pasteurella* paraît être un microbe banal très répandu dans la nature, existant en particulier dans l'intestin et sur les muqueuses des voies aériennes des animaux sains. Sous des influences mal connues encore, maladies causées par d'autres microbes ou même maladies sans microbes, la *pasteurella* passe du canal intestinal ou des voies aériennes dans le sang, où elle acquiert très vite une virulence capable de tuer des animaux de même espèce ou d'espèces voisines. Pour notre part, à quatre reprises différentes nous avons retiré du sang d'animaux d'expérience une *pasteurella* qui n'était pas toujours la même, alors



que nos animaux étaient inoculés d'une tout autre maladie qu'une pasteurellose, et que la contagion ne pouvait jouer aucun rôle. Mais, malgré tous nos efforts, nous ne sommes pas encore arrivés à préciser les conditions nécessaires pour faire apparaître la pasteurella spontanément dans le sang. Nous poursuivons nos études dans cette direction.

Quoi qu'il en soit, il nous paraît bien difficile, après ce que l'on sait aujourd'hui, de ne pas faire, involontairement pour ainsi dire, un rapprochement entre les résultats de ce travail et ceux déjà acquis pour d'autres maladies, très variables également dans leurs diverses manifestations, comme les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, comme la tuberculose et ses variétés : humaine, bovine, équine, aviaire, etc.

Chacune de ces maladies ne serait-elle pas produite par un microbe déterminé, ayant acquis des propriétés virulentes spéciales, par des passages par le corps de divers animaux ou dans différents milieux encore inconnus ?

---

# ÉTUDES SUR LA FIÈVRE JAUNE

PAR MM. E. MARCHOUX ET P.-L. SIMOND

---

## Troisième Mémoire.

De la Mission française à Rio-de-Janeiro.

---

### I

#### RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA BIOLOGIE DU *Stegomyia fasciata*.

##### 1<sup>o</sup> *Expériences tendant à déterminer les moments des piqûres.*

Dans un précédent mémoire, nous avons insisté sur ce fait que la fièvre jaune n'est pas contractée au cours de la journée, mais seulement à la chute du jour ou pendant la nuit. La démonstration en est facile à Rio-de-Janeiro, grâce au voisinage de Pétropolis, sanatorium placé à 800 mètres d'altitude, où la population étrangère va se mettre à l'abri de l'épidémie. En faisant remonter nos recherches aussi loin que nous l'ont permis les documents existants, nous n'avons pu relever un seul cas où la fièvre jaune ait frappé un de ces étrangers, parmi ceux si nombreux qui vont passer la journée à Rio, y séjournent de 9 heures du matin à 4 heures du soir, et reviennent coucher à Pétropolis. Les cas sont nombreux, au contraire, parmi ceux qui accidentellement retenus à Rio ont dû y coucher, ne fût-ce qu'une seule nuit.

D'après nos observations, nous avons cru devoir attribuer cette immunité diurne à ce que la femelle du *Stegomyia fasciata*, très ardente à la recherche du sang humain, dans les premiers jours de son existence d'insecte parfait, cesse après quelque temps de s'attaquer à l'homme durant la journée et se contente dès lors de le piquer pendant la nuit.

En vue de préciser les données de l'observation, nous avons institué en 1904 et 1905 une série d'expériences sur cette question. Ces expériences, qui ont confirmé nos précédentes conclusions, ont été réalisées de la manière suivante :

Une pièce de notre laboratoire de l'hôpital São-Sebastião a



été installée de façon à pouvoir faire l'office à la fois de laboratoire et de chambre à coucher. Ses ouvertures ont été closes avec du tulle à moustiquaire, et l'entrée pourvue d'un tambour, de telle sorte que les moustiques qu'on y renfermait ne pouvaient s'échapper.

L'un de nous s'est astreint à habiter cette pièce pendant la journée et la nuit, afin d'observer les *Stegomyia fasciata* qui, soit isolément, soit par séries, y ont été introduits au cours des saisons chaudes de 1904 et 1905, dans un but expérimental.

Les moustiques successivement mis en expérience, se sont trouvés dans des conditions pareilles à celles qu'ils rencontrent dans les chambres à coucher des habitations particulières. Ils avaient, toutefois, une plus grande facilité de piquer au cours de la journée, attendu que l'observateur ne s'absentait de la chambre à expérience qu'aux heures des repas, tandis que, dans une maison, les chambres à coucher sont d'ordinares vides de leurs habitants, pendant la plus grande partie de la journée.

7 expériences ont été faites, dont 5 avec des séries de 6 ou 8 moustiques et 2 avec des moustiques isolés. 5 de ces expériences ont été interrompues par la mort accidentelle des moustiques avant le 16<sup>e</sup> jour, une au 18<sup>e</sup> jour et une au 28<sup>e</sup> jour. Nous rapporterons en détail les deux dernières comme étant les plus complètes.

#### EXPÉRIENCE I

Un lot de 8 *Stegomyia fasciata* femelles, nées et élevées au laboratoire, sont mises en liberté dans la chambre à expérience, 24 heures après leur passage à l'état parfait. Pendant ces 24 heures elles sont restées enfermées en compagnie de mâles et ont été vraisemblablement fécondées.

1<sup>er</sup> jour : piqûres nombreuses entre 9 heures du matin et 5 heures du soir.

2<sup>e</sup> jour : piqûres (1 ou 2 seulement) entre 3 et 6 heures du matin, à l'obscurité. Piqûres nombreuses de 10 à 11 heures du matin.

3<sup>e</sup> jour : piqûres entre 1 et 5 heures du matin.

4<sup>e</sup> jour : piqûres entre 9 et 10 heures du matin. Piqûres entre 4 et 5 heures du soir.

5<sup>e</sup> jour : piqûres à 5 heures du soir. Piqûres à 10 heures et 1/2 du soir.

6<sup>e</sup> jour : piqûres entre minuit et 5 heures du matin. Une piqûre à 3 heures du soir.

7<sup>e</sup> jour : piqûres à 5 heures 1/2 du soir. Piqûres à 10 heures du soir.

8<sup>e</sup> jour : piqûres à 2 heures du matin, à l'obscurité.

9<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> jour : pendant ces 2 jours, on a laissé les moustiques seuls dans la chambre à expérience.

11<sup>e</sup> jour : piqûres entre 6 heures et 6 heures 1/2 du soir. Piqûres entre 10 et 11 heures du soir.

12<sup>e</sup> jour : pas de piqûres.

13<sup>e</sup> jour : piqûres entre 10 et 11 heures du soir.

14<sup>e</sup> jour : piqûres entre 4 et 5 heures du matin.

15<sup>e</sup> jour : pas de piqûres.

16<sup>e</sup> jour : piqûres dans la nuit, entre 1 et 6 heures du matin. Il paraît ne subsister que 2 moustiques du lot mis en expérience.

17<sup>e</sup> jour : piqûres à 9 heures 1/2 du soir.

18<sup>e</sup> jour : on a vu ce jour-là un seul moustique voler dans la pièce sans essayer de piquer. Depuis ce moment, aucun des moustiques n'a été revu.

Au cours de l'expérience, on a constaté qu'un certain nombre de *Stegomyia* avaient pondu. La plupart des pontes ont eu lieu du 4<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> jour.

#### EXPÉRIENCE II

Un *Stegomyia fasciata* femelle a été laissé en liberté dans la chambre à expériences le lendemain de son passage à l'état parfait. En même temps, on a introduit dans la chambre 2 *St. f.* mâles.

1<sup>er</sup> jour : piqûres à 2 heures 1/2 du soir.

2<sup>e</sup> jour : piqûres le matin entre 4 et 6 heures.

3<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

4<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

5<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

6<sup>e</sup> jour : piqûre le matin entre 1 et 6 heures, à l'obscurité. Piqûre le soir à 11 heures 1/2, à la lumière.

7<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

8<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

9<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

10<sup>e</sup> jour : piqûres le matin entre 1 et 2 heures, à l'obscurité.

11<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

12<sup>e</sup> jour : piqûre dans la nuit entre 2 et 5 heures du matin, à l'obscurité.

13<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

14<sup>e</sup> jour : piqûre le matin, entre 4 et 6 heures.

15<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

16<sup>e</sup> jour : piqûre entre 5 et 6 heures du matin.

17<sup>e</sup> jour : piqûre à 1 heure du matin.

18<sup>e</sup> jour : piqûre entre minuit et 6 heures du matin.

19<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

20<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

21<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

22<sup>e</sup> jour : piqûre à 11 heures du soir, à la lumière.

23<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

24<sup>e</sup> jour : piqûre à 10 heures du soir, à la lumière.

25<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

26<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.



27<sup>e</sup> jour : piqûre dans la nuit, entre minuit et 6 heures du matin.

28<sup>e</sup> jour : pas de piqûre.

Le moustique a été vu le 28<sup>e</sup> jour pour la dernière fois.

Au cours de l'expérience, ce *Stegomyia* a pondu plusieurs fois. Deux de ces pontes ont pu être recueillies : l'une a eu lieu du 6<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour ; l'autre du 13<sup>e</sup> au 16<sup>e</sup> jour. Chacune comprenait de 25 à 30 œufs seulement.

Les cinq autres expériences nous ont donné des résultats analogues à ceux que nous venons d'exposer, au point de vue des moments des piqûres. Elles nous ont manifestement démontré que le *Stegomyia f.* dans les conditions normales, c'est-à-dire en liberté, cesse de piquer l'homme dans le cours de la journée, après les 6 ou 8 premiers jours de son existence à l'état parfait. Cependant, après le 8<sup>e</sup> jour, on le voit encore quelquefois piquer vers 6 heures du soir, alors que la nuit n'est pas encore établie.

Aucun des moustiques mis en expérience n'a manifesté le désir de piquer, entre 7 heures du matin et 3 heures 1/2 du soir, à partir du 8<sup>e</sup> jour de son existence à l'état parfait. Il ne faudrait pas conclure de là, croyons-nous, qu'en aucune circonstance le *Stegomyia* âgé de plus de 8 jours n'est capable de piquer dans la journée. Nous avons constaté en effet que, si l'on isolait dans un tube de verre au 15<sup>e</sup> ou au 20<sup>e</sup> jour un des *Stegomyia* en expérience, il acceptait de piquer à toute heure après un jeûne suffisamment prolongé, et si la température est suffisamment élevée. Il peut, semble-t-il donc, se rencontrer des circonstances où le moustique abandonné à lui-même se conduise comme lorsqu'il y est forcé par le jeûne en captivité. Ce que l'on peut affirmer, c'est que le fait n'a pas lieu dans les conditions ordinaires. Nous avons répété la même expérience avec une autre espèce, le *Culex fatigans*. Ce moustique pique normalement pendant la nuit et, contrairement au *St. f.*, à aucune période de son existence il ne paraît empressé à piquer dans la journée à l'état de liberté. Or, si l'on capture une femelle de cette espèce qui a jusque-là vécu à l'état libre, et piqué exclusivement pendant la nuit, on peut, après l'avoir soumise au jeûne, la déterminer à piquer de jour. Pour obtenir que soit les *Culex fatigans*, soit les *St. f.* âgés de 1 à 2 semaines, piquent dans la journée, il semble indispensable, non seulement de les sou-

mettre à un jeûne préalable, mais aussi de les maintenir au contact de la peau par contrainte. A plusieurs reprises, en effet, nous avons capturé des moustiques de ces deux espèces, qui avaient vécu libres un certain temps dans la chambre à expériences. Ils ont été soumis au jeûne pendant 48 heures, puis relâchés dans la pièce au matin. Les uns et les autres, que l'on pouvait croire affamés, ont attendu le retour de la nuit pour piquer; or ils n'auraient pas manqué de piquer dans la journée si, gardés dans les tubes, ils avaient été maintenus un moment appliqués sur la peau humaine.

La grande activité diurne que manifestent les *St. f.* pendant les premiers jours de leur existence nous avait fait penser qu'à cette première période de la vie aérienne, ils étaient peu disposés à piquer de nuit. L'expérience nous a montré qu'il n'en était rien : les *St. f.*, mis en liberté dès leur arrivée à l'état ailé, piquent le jour et la nuit presque indifféremment. A la vérité, ils sont plus actifs dans la journée, surtout si la température dépasse 25°, mais, dans toutes les expériences, quand un certain nombre de ces moustiques neufs ont été lâchés en liberté dans le laboratoire dès le matin et ont la faculté de piquer dans la journée, une partie d'entre eux ont piqué également au cours de la première nuit.

Donc, si le *St. f.* femelle cesse au bout de quelques jours d'existence d'attaquer l'homme dans la journée, ce n'est point que ses mœurs subissent une transformation complète : il ne passe pas de l'état d'insecte diurne à l'état d'insecte nocturne. Il possédait l'instinct de la piqure nocturne dès son arrivée à l'état parfait.

On peut encore s'en rendre compte par l'expérience suivante : dans une chambre d'élevage maintenue à la température de 25° à 28°, on place un lot de larves de *St. f.* et on les laisse se transformer en insectes parfaits. Dans la nuit qui suit cette transformation, à une heure quelconque et à l'obscurité, un observateur est introduit dans la pièce et y demeure en repos. Au bout de quelques minutes les jeunes femelles quittent les murailles où elles se tenaient immobiles et commencent à bourdonner autour de lui; il suffit que l'expérience soit prolongée une demi-heure pour que la majorité d'entre elles aient piqué.



Les expériences que nous rapportons nous ont permis de noter les heures de jour et de nuit où le *St. f.* déploie la plus grande activité :

Pendant les 4 ou 5 premiers jours, l'activité diurne est surtout manifeste de 9 heures du matin à 3 heures du soir. Elle est exagérée par la chaleur solaire et la tension de vapeur d'eau atmosphérique. Elle s'atténue ou disparaît après la première ponte.

L'activité nocturne persiste pendant toute la durée de l'existence, en général avec une intensité moindre que pendant le jour, mais également influencée par le degré de température. Elle se manifeste de préférence à la chute du jour, entre 5 et 7 heures du soir, dans la soirée entre 9 et 10 heures, le matin entre 1 et 2 heures et, moins fréquemment, au lever du soleil.

Il résulte de ces observations que la fréquentation d'un foyer de fièvre jaune est inoffensive entre 7 heures du matin et 5 h. 1/2 du soir ou, en d'autres termes, que la contagion ne se produit habituellement qu'entre 5 h. 1/2 du soir et 7 heures du matin. Nous avons insisté ailleurs sur l'importance de cette donnée au point de vue de la prophylaxie, il était indispensable de la préciser expérimentalement.

Ainsi que nous l'avons noté plus haut, nos expériences ont été souvent écourtées par la disparition successive des moustiques en observation. Parmi les causes de mortalité des *St. f.* vivant à l'état de liberté, il faut citer en premier lieu la ponte. Il n'est pas de règle que l'individu meure après une première ponte. Après la troisième et la quatrième, le phénomène est très commun. Nous avons possédé une seule femelle qui a fourni 7 pontes successives. Si l'on considère qu'un *St. f.* femelle vivant dans une chambre à coucher habitée, où il peut fréquemment pratiquer la succion du sang, fournit en moyenne une ponte dans un espace de 5 à 6 jours, on voit que la durée de son existence sera limitée d'ordinaire à 15 ou 20 jours. Elle pourra, pour certains individus, être prolongée jusqu'à 30 jours, très rarement cette limite sera dépassée encore. Ici, l'expérience est venue confirmer les conclusions auxquelles nous avons été conduits par nos premières observations sur la biologie du *St. f.*, à savoir que sa longévité est plus considérable quand on le maintient en captivité en le nourrissant de ma-

tières sucrées, que lorsqu'il vit à l'état libre dans la nature.

Une autre cause que la ponte a contribué à abréger la vie de nos *St. f.* et interrompu à plusieurs reprises les expériences : c'est la chasse que donnent aux moustiques, dans les appartements, les araignées du genre *Salticus*. Après s'être gorgé de sang, le *St. f.* a de la peine à voler. Il va se poser dans un endroit sombre et y reste immobile. S'il n'est pas dérangé, il y demeure le plus souvent jusqu'à ce que la digestion soit accomplie. Durant cette période d'immobilité, il est une proie facile pour les *Salticus*, s'il en existe dans la pièce.

On pourrait considérer par suite ces araignées comme des auxiliaires précieux de la défense contre les moustiques. Répandues comme elles le sont dans les habitations des régions tropicales, elles ne peuvent manquer d'en détruire un assez grand nombre. Malheureusement, leur action ne s'exerce plus aussi efficacement dans les appartements ordinaires que dans une chambre à expériences comme la nôtre, fermée aux mouches et aux moustiques du dehors, et contenant un nombre très limité de moustiques introduits dans un but expérimental. Ici, en effet, les *Salticus*, n'ayant d'autre proie en perspective que ces quelques *Stegomyia*, les poursuivaient sans relâche. Au contraire, dans les habitations à ouvertures non closes, non seulement les moustiques pénètrent en quantité trop grande pour que la chasse donnée par les *Salticus* puisse les diminuer d'une façon notable, mais aussi les mouches, qui y ont accès en grand nombre, contribuent pour une large part à satisfaire la voracité des petites araignées sauteuses.

Sans attacher plus d'importance qu'il ne convient à l'aide que l'on peut retirer des *Salticus*, pour la destruction des moustiques, nous estimons que leur concours peut être utile, surtout dans les chambres à coucher dont les fenêtres sont closes et où les *Stegomyia* ne peuvent pénétrer que par hasard et en petit nombre.

Nous avons pu nous rendre compte, au cours des expériences mentionnées ci-dessus, que la chambre à coucher constitue l'habitation de choix pour le *Stegomyia fasciata*. Turbulent à l'excès pendant les premiers jours de sa vie ailée, il poursuit sa proie humaine dans toutes les pièces de la maison; plus tard, son exubérance se calme, il devient plus sédentaire et se retire

pendant la journée dans les endroits où il peut se tenir tranquille, choisissant de préférence les vêtements usagés et de couleur sombre pour s'y poser, en attendant le retour de l'appétit. La chambre à coucher l'attire particulièrement par l'odeur humaine dont son atmosphère est imprégnée, par la tranquillité dont il y jouit et par la facilité avec laquelle il peut, chaque nuit, se repaître de sang quand il en éprouve le besoin. Quand il n'y trouve pas l'eau nécessaire à la ponte, il va chercher au dehors ce milieu indispensable à sa descendance. Nous avons constaté que les *Stegomyia* en expérience faisaient de rares tentatives pour s'échapper de la chambre. Si parfois quelqu'un d'entre eux se dirigeait vers la fenêtre et cherchait une issue à travers la toile grillagée, c'était en général une femelle prête à pondre en quête du milieu propice. C'est donc, au point de vue de la fièvre jaune, la chambre à coucher qui est l'endroit par excellence, le foyer le plus propice à la transmission. C'est là que l'on peut rencontrer plus particulièrement des *St. f.* assez âgés pour posséder le pouvoir infectieux. Et, quand un individu atteint de fièvre jaune est demeuré dans une chambre une ou plusieurs nuits, c'est cette pièce dont la désinfection exige l'attention la plus grande, d'une part pour ne pas permettre aux moustiques qui s'y trouvent enfermés de s'enfuir avant le commencement de l'opération, d'autre part pour assurer rigoureusement leur destruction.

2<sup>o</sup> *Conditions de la ponte chez le Stegomyia fasciata et diverses autres espèces de Culicides.*

Nos premières recherches concernant la biologie du *St. f.* ont établi que la femelle, après l'accouplement, n'est capable de développer ses œufs et de pondre qu'à la condition d'avoir au préalable ingéré du sang. Après une première ponte, l'insecte en général ne meurt pas et conserve la faculté de piquer. Il peut, après de nouveaux repas de sang, fournir plusieurs pontes successives, sans que l'accouplement soit répété, grâce à l'emmagasinement des spermatophores dans le réceptacle séminal. L'importance de ces faits par rapport à l'aptitude des *St. f.* à transmettre la fièvre jaune nous a déterminés à en continuer l'étude.



Nous avons recherché si l'influence de l'alimentation par le sang, sur le développement des œufs, s'exerçait de la même façon lorsqu'il avait été puisé directement dans le vaisseau par la trompe de l'insecte, ou quand il avait été retiré au préalable et exposé pendant un certain temps au contact de l'air :

*Expérience.* — 8 *St. f.* femelles récemment issues des pupes et accouplées, ont été isolées dans des tubes à élevage. 2 d'entre elles ont été nourries avec du sérum humain frais centrifugé; 2 autres avec des globules rouges séparés par centrifugation; 2 autres avec du caillot sanguin. Enfin on a fait piquer sur l'homme les 2 dernières pour servir de témoins.

Des 6 femelles nourries avec du sérum, des globules rouges et du caillot sanguin, aucune n'a pondu. Les 2 témoins, au contraire, ont pondu dans les 6 jours qui ont suivi la piqûre.

Au 7<sup>e</sup> jour de l'expérience, on a fait piquer 2 des *St. f.* nourris avec du sérum et du caillot sanguin. Ces 2 individus ont effectué leur ponte dans les 4 jours après la piqûre. Ils étaient donc fécondés et n'avaient besoin que d'ingérer du sang vivant pour développer leurs œufs.

Par conséquent, le sang mort est sans valeur au point de vue du développement de l'œuf du moustique, *l'ingestion de sang vivant est la condition de la ponte.*

On ne saurait s'étonner dès lors que le *St. f.* ne soit point attiré par le sang épanché hors des vaisseaux. celui par exemple qui provient des hémorrhagies nasale ou buccale d'un malade atteint de fièvre jaune. Nous avons constaté expérimentalement que les femelles mises au contact de la peau d'un malade, en un point où elle est souillée par le sang provenant d'une hémorrhagie buccale, ne s'arrêtent pas à absorber ce sang épanché. Si l'insecte est sollicité par la faim, il pique directement la peau en choisissant un endroit de la surface où elle n'est pas maculée de sang. S'il n'est pas en appétit, il reste sur les parois du tube. En aucun cas, il ne recherche le sang qui macule la peau.

Le sang mort n'est d'ailleurs point une alimentation que le *St. f.* affectionne. Captif dans un tube, il se résout à s'en nourrir quand on ne lui offre pas autre chose, mais, si l'on place à sa portée un caillot de sang et une matière sucrée telle que le miel ou le glucose, il délaisse le caillot pour la substance sucrée.

Une expérience de la mission allemande sur le même sujet paraît, au premier abord, ne pas concorder avec les nôtres : MM. Otto et Neuman ont vu des *St. f.* femelles pondre après avoir absorbé du sang recueilli sur du coton. Nous ne connaissons pas en détail la manière dont cette expérience a été réalisée. Il semble que ces savants aient fait ingérer, aux moustiques à jeun, le sang immédiatement après sa sortie des vaisseaux. Dans ces conditions, il possède encore ses propriétés de sang vivant. Nous ne croyons pas qu'une telle expérience infirme en rien les conclusions qui découlent des tentatives, que nous avons infructueusement répétées, pour obtenir la ponte de femelles fécondées, en les nourrissant de sang issu des vaisseaux depuis quelques heures.

Le rapport que nous avons relevé chez le *St. f.*, entre l'ingestion de sang vivant et la ponte, n'est pas un fait isolé parmi les culicides, et nombre d'autres exemples en sont connus. Cependant, certains auteurs admettent l'existence de moustiques phytophages, chez lesquels les deux sexes n'auraient jamais recours à l'alimentation sanguine. Parmi les nombreuses espèces de moustiques qui nous ont servi à des expériences sur ce sujet, nous n'en avons rencontré aucune dont la femelle pût se passer de sang pour la maturation de ses œufs. Aussi nous croyons-nous fondés à penser que la fonction maternelle exige la succion du sang, chez toutes les espèces de culicides pourvues d'un appareil suceur bien développé. Les espèces tenues jusqu'ici pour phytophages seraient celles dont les femelles ne piquent pas l'homme ou les animaux domestiques. Tel est le *Culex cingulatus*, que nous avons étudié particulièrement à cet égard.

Ce petit moustique vit en abondance au Brésil, dans les terrains en broussailles ou en prairies; on le rencontre au voisinage des habitations, mais il n'y pénètre pas d'ordinaire. A diverses reprises, nous avons capturé des femelles de cette espèce, prêtes à pondre, et nous avons pu faire l'élevage d'une génération. En aucun cas, nous n'avons réussi à faire piquer soit sur l'homme, soit sur un animal de laboratoire, ni les femelles capturées à l'état sauvage, ni celles élevées en captivité, quelles que fussent les conditions d'heure ou de température pendant l'expérience. Voici donc une espèce de moustique qu'on pourrait croire, à première vue, exclusivement phytophage, d'autant plus qu'on

conserve assez facilement les individus dans une cage où l'on a placé des fruits ou des matières sucrées. Il n'en est rien cependant, ainsi qu'on peut le constater en cherchant à obtenir des pontes. D'une part, les femelles élevées en captivité en compagnie des mâles, pour permettre l'accouplement, n'arrivent jamais à émettre une ponte, quelle que soit la nourriture reçue. D'autre part, si l'on capture un certain nombre de femelles ayant vécu à l'état sauvage, il s'en trouve qui ont été accouplées et, en outre, ont absorbé la nourriture indispensable au développement de leurs œufs. Celles-ci ne tardent pas à pondre. Pour celles qui ne pondent pas, on peut être certain : 1° qu'elles n'ont jamais pondu encore, car la mort, chez cette espèce, suit d'assez près la ponte (c'est ce qui s'est produit pour les échantillons qui ont pondu dans le laboratoire); 2° qu'elles n'ont pas rencontré, en supposant qu'elles aient été fécondées, la nourriture indispensable au développement des œufs. Ces femelles, conservées au laboratoire en compagnie de mâles, n'arrivent jamais à pondre, quelle que soit la nourriture qu'on leur donne. Ces faits sont de nature à faire supposer que la femelle du *Culex cingulatus* trouve dans la nature une espèce animale qui lui fournit le sang nécessaire à la reproduction. Il est possible que la trompe de ce culicide soit trop faible pour piquer la plupart des animaux. On le voit, en effet, faire effort quelquefois pour piquer la peau humaine, sans y réussir. Peut-être trouve-t-il parmi les petits oiseaux des espèces auxquelles il est adapté.

Nous avons étudié, au même point de vue, nombre de culicides, entre autres *Culex fatigans*, *Culex taeniorhynchus*, *Culex confirmatus*, *Culex mimeticus*, *Anopheles albitarsis*, *Limatus Durhami*, *Trichoprosopon niripes*, *Wyeomia* sp...?, *Megarrhinus* sp...?, *Jantinosoma musica*, *Psorophora ciliata*.

Chez toutes ces espèces, l'ingestion de sang vivant par la femelle est indispensable à la ponte. Le *Stegomyia fasciata* obéit donc, à cet égard, à une loi très générale.

Il n'en est pas de même en ce qui concerne la répétition des pontes.

P. Manson a noté, le premier croyons-nous, que le moustique femelle meurt après avoir accompli la ponte. C'est là un phénomène très commun chez les culicides. Cependant, il n'est pas constant chez toutes les espèces, et, chez celles où il est



constant, il ne se produit pas toujours avec régularité et de la même manière. Pour certaines, la mort de la femelle survient, soit pendant l'acte de la ponte, soit aussitôt après qu'il est terminé. L'insecte ne peut reprendre son vol et agonise à côté de ses œufs, à la surface de l'eau. Pour d'autres, l'existence de la pondeuse se termine tantôt au bout de peu d'heures, tantôt dans les deux ou trois jours qui suivent la ponte et il arrive, exceptionnellement, qu'elle trouve encore la force de piquer dans cet intervalle. Pour d'autres espèces, enfin, quelques femelles survivent peu à la ponte, tandis que d'autres reprennent sinon leur activité antérieure, du moins assez d'énergie pour se livrer à de nouvelles piqûres qui sont suivies de nouvelles pontes. Le *Stegomyia fasciata* appartient à ce dernier groupe, qui semble fort peu nombreux.

Quelle que soit l'espèce considérée, la ponte détermine toujours un affaiblissement très notable de l'activité du moustique, auquel correspondent, quand il survit, certaines modifications de ses mœurs. La répétition des pontes finit toujours par amener la mort.

Si l'on se rapporte à ce que nous avons dit concernant le délai au bout duquel le *Stegomyia fasciata* donne ordinairement sa première ponte, lorsqu'il vit en liberté dans la nature, on voit que la faculté qu'il possède d'émettre plusieurs pontes successives est la condition sans laquelle il ne pourrait servir de véhicule à la fièvre jaune. En effet, dans l'état normal de son existence, à peine arrivée à l'état ailé, la femelle est fécondée et n'a ensuite d'autre préoccupation que de se procurer le repas de sang qui doit assurer sa maternité. La ponte, ordinairement, est effectuée du 2<sup>e</sup> au 6<sup>e</sup> jour après ce repas, c'est-à-dire qu'elle se produit dans les 8 premiers jours de l'existence aérienne de l'insecte. A supposer que le premier individu piqué par lui fût un malade de fièvre jaune, l'intervalle écoulé entre la piqûre et la ponte serait toujours insuffisant pour conférer au moustique le pouvoir infectieux. Donc, si la première ponte entraînait la mort chez la femelle *St. f.*, comme elle le fait régulièrement pour d'autres espèces, telles que *Culex confirmatus* par exemple, la transmission de la fièvre jaune serait impossible, et cette maladie n'existerait pas pour l'espèce humaine.

Nous avons voulu nous rendre compte du nombre des pontes

qu'un *St. f.* est capable d'émettre successivement, et nous avons multiplié les expériences à cet égard.

Il en résulte que, sur 100 femelles, la moitié environ fournissent une seule ponte, 30 sont capables d'en donner 2, et 21 un nombre plus considérable allant de 3 à 7. Ce dernier chiffre est le maximum que nous ayons observé.

Expérience. — Une femelle *St. f.*, arrivée à l'état parfait le 24 janvier 1904, a été enfermée dans un bocal en compagnie d'un mâle, du 24 au 26. Elle a été isolée ensuite dans un tube à élevage.

1 <sup>re</sup> piqure le 26 janvier.	—	1 <sup>re</sup> ponte le 30 janvier;
2 <sup>e</sup> piqure le 6 février.	—	2 <sup>e</sup> ponte le 10 février;
3 <sup>e</sup> piqure le 16	—	3 <sup>e</sup> ponte le 19 —
4 <sup>e</sup> piqure le 21	—	4 <sup>e</sup> ponte le 23 —
5 <sup>e</sup> piqure le 24	—	5 <sup>e</sup> ponte le 27 —
6 <sup>e</sup> piqure le 27	—	6 <sup>e</sup> ponte le 29 —
7 <sup>e</sup> piqure le 4 <sup>er</sup> mars.	—	7 <sup>e</sup> ponte, le 3 mars.

La mort est survenue après cette dernière ponte: l'insecte a vécu 39 jours.

Dans les expériences, chaque fois qu'une ponte avait eu lieu, on mettait journellement le moustique pendant 20 minutes en contact avec la peau du bras d'un sujet, jusqu'à ce qu'il se fût décidé à pratiquer une nouvelle piqure. Après cette piqure effectuée, il était laissé en repos jusqu'après une nouvelle ponte. Il s'ensuit qu'entre deux pontes, le *St. f.* n'avait piqué qu'une seule fois. Il n'en est pas toujours ainsi à l'état de liberté: nous avons observé que la femelle libre, après une ponte, pique souvent chaque nuit entre cette ponte et la suivante, et peut même piquer plusieurs fois dans une seule nuit. Ce fait n'est pas sans importance au point de vue du nombre de victimes que peut faire un seul *St. f.* infecté de virus amaril.

Parmi les femelles qui ont effectué une première ponte, il en est qui survivent longtemps sans pondre à nouveau, bien qu'elles continuent à pratiquer la succion du sang. Chez celles-ci, sans doute, la provision spermatique est épuisée. Elles ne sont que plus dangereuses au point de vue de la transmission de la fièvre jaune, ayant des chances de plus longue vie.

La première ponte d'un *St. f.* compte en général un nombre d'œufs considérable, de 70 à 95, quelquefois moins et rarement davantage. Les suivantes sont moins importantes

et, dans nos expériences, n'ont pas dépassé un maximum de 30 œufs.

Gœldi a exprimé l'opinion que chaque femelle *St. f.* est capable de produire un maximum de 80 à 110 œufs. Ce maximum constituerait une ponte complète, après laquelle l'insecte meurt fatalement. Pour ce naturaliste, suivant que la femelle a absorbé, ou non, la quantité de sang nécessaire, la ponte s'effectue en un seul temps ou bien par fractions. En ce dernier cas, le moustique, après une première ponte partielle, pique à nouveau un certain nombre de fois, pour amener à maturation le restant de ses œufs et terminer sa ponte en plusieurs temps. Nous ne partageons pas entièrement cette manière d'interpréter les faits. Nos recherches nous ont montré que, si le nombre des œufs qu'une femelle peut procréer n'est pas illimité, du moins il varie dans des limites assez étendues. C'est ainsi qu'un *St. f.* nous a donné, en 4 pontes, un total de 144 œufs <sup>1</sup>.

Expérience. — Une femelle *St. f.* arrivée à l'état parfait le 11 février 1904 et accouplée le même jour, a été isolée dans un tube à élevage.

1<sup>re</sup> piqûre le 13 février;

1<sup>re</sup> ponte de 71 œufs le 16 février;

2<sup>e</sup> piqûre le 17 février;

2<sup>e</sup> ponte de 34 œufs le 22 février;

3<sup>e</sup> piqûre le 23 février;

3<sup>e</sup> ponte de 17 œufs le 1<sup>er</sup> mars;

4<sup>e</sup> piqûre le 2 mars;

4<sup>e</sup> ponte de 22 œufs le 3 mars.

Le moustique a piqué une 5<sup>e</sup> fois, le 7 mars. Il est mort aussitôt après la piqûre.

On ne saurait donc affirmer qu'un *St. f.*, qui meurt après avoir pondu un certain nombre d'œufs, 80 par exemple, a succombé parce qu'il avait épuisé le stock des œufs qu'il était capable de produire. S'il en était ainsi, la mort devrait toujours suivre de près une 1<sup>re</sup> ponte de ce chiffre, et elle ne devrait pas accompagner des pontes d'un petit nombre d'œufs. Or, d'une part, nous avons pu conserver vivants pendant plusieurs mois des *St. f.* qui avaient pondu de 70 à 95 œufs. D'autre part, nous avons vu des *St. f.*, après une 1<sup>re</sup> ponte d'une trentaine d'œufs seulement, refuser toute nourriture et mourir

1: GÖELDI, *Os Mosquitos no Para*. Para, 1903.



au bout de quelques jours ou même de quelques heures.

Il y a plus : si l'on admettait comme règle que la mort suit la ponte, chez les moustiques, parce qu'ils ont émis la totalité des œufs qui leur étaient dévolus congénitalement, les ovaires, chez les espèces qui ne donnent jamais qu'une seule ponte, devraient cesser de fonctionner après cette ponte. Or nous avons constaté qu'il n'en est pas toujours ainsi.

Parmi les espèces incapables de fournir plus d'une ponte, nous avons étudié sous ce rapport l'espèce *Culex confirmatus*, tant à l'état sauvage qu'à l'état de captivité. Contrairement à ce qui se passe pour le *St. f.*, chez cette espèce, la femelle ne donne jamais qu'une seule ponte et, quel que soit le nombre des œufs émis, meurt après cette ponte, soit immédiatement, soit dans les 5 jours qui suivent :

*Expérience.* — 10 *C. confirmatus* femelles, élevées au laboratoire et fécondées, ont été isolées en tubes à élevage, le 25 janvier 1905. Toutes ont piqué sur l'homme le même jour.

N° 1 a pondu, le 29 janvier, 82 œufs, elle est morte le 31 janvier, sans avoir consenti à piquer à nouveau.

N° 2 a pondu, dans le 28 janvier, 82 œufs. Elle a piqué de nouveau le 1<sup>er</sup> février au matin. Morte le 2 février, 36 heures après la piqure.

N° 3 a pondu 27 œufs le 29 janvier. Est morte en pondant sans avoir achevé sa ponte; elle avait encore une soixantaine d'œufs murs dans l'abdomen.

N° 4 a pondu, le 29 janvier, 89 œufs. Morte le 1<sup>er</sup> Février sans avoir consenti à piquer de nouveau.

N° 5 a pondu, le 29 janvier, 48 œufs. Morte le 1<sup>er</sup> février sans avoir consenti à piquer de nouveau.

N° 6 a pondu, le 29 janvier, 97 œufs. Morte le 30 janvier sans avoir consenti à piquer de nouveau.

N° 7 a pondu, le 28 janvier, 93 œufs. A piqué de nouveau le 29 janvier au matin. Morte dans la nuit du 31 janvier au 1<sup>er</sup> février.

N° 8 a pondu, le 30 janvier, 55 œufs. Morte le 31 janvier sans avoir voulu piquer à nouveau.

N° 9 a pondu, le 30 janvier, 73 œufs. Morte le même jour.

N° 10 a pondu, le 2 mars, 11 œufs. Morte le même jour sans avoir terminé sa ponte; l'abdomen contenait encore un certain nombre d'œufs murs.

L'expérience répétée avec des *C. confirmatus* capturés dans la campagne nous a fourni des résultats semblables.

Voici donc une espèce où la femelle ne fournit jamais qu'une seule ponte et ne survit jamais plus de 4 à 5 jours à sa ponte. On a vu par les chiffres ci-dessus que cette ponte comporte

normalement de 80 à 90 œufs. Si la mort marquait, comme le prétend Gœldi pour le *St. f.*, le terme du pouvoir ovogénétique, l'ovaire, dans cette espèce, devrait rester inerte après la ponte. Or, chaque fois que la femelle survit quelques jours à cet acte et qu'il est possible de la faire piquer à nouveau, sous l'influence de cette nouvelle ingestion de sang les fonctions de l'ovaire se réveillent et une nouvelle série d'œufs se développent.

Tel a été le cas pour les numéros 2 et 7 de l'expérience relatée ci-dessus. Le premier, après avoir pondu 82 œufs le 28 janvier, a refusé de piquer pendant les 3 jours suivants. On a réussi à le faire piquer le 1<sup>er</sup> février, et il est mort 36 heures plus tard. Nous avons examiné ses organes et constaté l'existence d'environ 30 œufs en voie de développement.

Le second moustique, au lendemain d'une ponte de 93 œufs, a consenti à piquer. Il est mort 48 à 50 heures après cette piqure. Ses ovaires nous ont montré plus de 60 œufs en voie de développement et déjà proches de la maturité.

Il se passe donc, chez cette espèce, le même phénomène que pour le *St. f.*, c'est-à-dire qu'au lendemain d'une ponte normale il suffit d'un nouveau repas de sang pour que les organes maternels recommencent à fonctionner; et l'on peut être certain que de nouvelles pontes auraient lieu, si la mort ne survenait avant la maturation des œufs.

Nous ne pouvons, par suite, accepter l'opinion que la mort, qui frappe si fréquemment les femelles des culicidés après leur première ponte, soit due à ce qu'elles ont épuisé leur fonction maternelle et expulsé la totalité des œufs que leur organisme était capable de produire. A notre point de vue, la ponte détermine chez le moustique un affaiblissement de l'organisme, dont il a peine à se relever. Chez certaines espèces le retour à la santé est possible, encore que peu constant; chez d'autres, l'organisme n'arrive pas à récupérer les forces nécessaires à la continuation de l'existence, et la mort devient une règle. Ce n'est point là la mort naturelle, au sens que l'insecte, ayant épuisé les facultés de ses organes, n'aurait plus de raison de subsister.

Nous ajouterons, en ce qui concerne la mortalité après la ponte chez le *St. f.*, que la saison nous a paru exercer une influence. C'est ainsi que, durant les périodes chaudes de l'été,

à Rio-de-Janeiro, la proportion des femelles qui mouraient après une seule ponte s'est montrée sensiblement moins élevée que dans les périodes fraîches. S'il était établi qu'il constitue une règle générale, ce fait viendrait encore à l'appui de notre manière de voir.

### 3° *Elevage du Stegomyia fasciata en France.*

On sait que la fièvre jaune, apportée de foyers endémiques par des navires, a occasionné en France même, à Marseille et à Saint-Nazaire notamment, de petites épidémies qui se sont localisées parmi le personnel soit des navires infectés, soit des navires voisins et, qui ont atteint, parfois, des individus ayant eu contact avec ces bâtiments. Aucun doute ne saurait subsister aujourd'hui, que les contaminations amarilles qui ont eu lieu dans les ports français, ont été dues à la présence de moustiques infectés, apportés des régions tropicales à bord des navires.

Nous nous sommes préoccupés de déterminer comment se comporte, en France, le *Stegomyia fasciata* et quelles y sont les conditions de sa multiplication.

A cet effet, nous avons rapporté de Rio-de-Janeiro, en mai 1904, un certain nombre de ces moustiques et nous en avons fait l'élevage du mois de mai au mois de novembre de la même année.

Nous avons procédé de la manière suivante : 20 *St. f.* mâles et 20 *St. f.* femelles ont été isolés dans des tubes à élevage immédiatement après leur métamorphose, le 13 février, veille du départ de Rio. Pendant le voyage, ils ont été alimentés avec de la pâte de glucose. A l'arrivée, le 5 mai, il restait 17 femelles et 9 mâles vivants. 3 femelles et 11 mâles étaient morts au cours de la traversée.

Nous avons réuni, dans un bocal à élevage, les *St. f.* des deux sexes et nous les avons placés dans une pièce dont la température était maintenue entre 20° et 25°, pendant la journée, et entre 18° et 23° pendant la nuit. Cette température a été obtenue grâce au chauffage de la pièce, pendant le jour, jusqu'à la fin de mai. A partir de ce moment les *St. f.* ont vécu à la température atmosphérique naturelle, qui s'est maintenue, pendant les mois de juin, juillet, août et septembre, entre 18° et 27°.



Parmi les femelles fécondées du 6 au 9 mai on en a isolé 5, qu'on a fait piquer sur l'homme le 9 mai.

N° 1 a pondu le 12 mai 73 œufs éclos le 21 mai;

N° 2 a pondu le 13 mai 70 œufs éclos le 23 mai;

N° 3 a pondu le 13 mai 54 œufs éclos le 22 mai;

N° 4 a pondu le 14 mai 81 œufs éclos le 30 juin;

N° 5 a pondu le 15 mai 19 œufs éclos le 26 mai.

L'éclosion a été complète pour une partie des pontes seulement, celles des n°s 1, 2 et 5. Les autres n'ont fourni que 50 0/0 environ de larves. Cependant, tous les œufs étaient fertiles, car parmi les œufs non éclos aux dates indiquées, un grand nombre ont donné des larves à des intervalles éloignés, dans le courant du mois de juin. On retrouve le même phénomène de retard et d'irrégularité, dans l'éclosion du *St. f.*, dans les régions où cette espèce pullule dans la nature, lorsque la température s'abaisse en certaines saisons.

Quelques larves, provenant de la ponte du n° 1, se sont métamorphosées en insectes parfaits le 7 juin, 17 jours après l'éclosion. Pour d'autres, la métamorphose a été retardée; certaines ne sont arrivées à l'état parfait qu'au bout de 35 jours.

Une femelle arrivée le 7 juin à l'état adulte, et, fécondée du 7 au 9 juin, a piqué sur l'homme le 10 juin.

Elle a pondu le 15 juin 67 œufs.

Une partie de ces œufs ont éclos le 19 juin, d'autres ont éclos successivement du 20 au 30 juin, environ un tiers ne sont jamais parvenus à l'éclosion.

Parmi les femelles de cette seconde génération qui ont atteint l'état adulte au 8 juillet, soit 19 jours après l'éclosion, un certain nombre ont été fécondées et ont donné des pontes.

Une d'elles, qui a piqué sur l'homme le 10 juillet, a pondu 88 œufs le 13 juillet. Les œufs ont éclos presque en totalité le 17 juillet. A ce moment, la température ambiante était en moyenne de 26° pendant le jour et de 24° pendant la nuit.

Nous avons obtenu une quatrième génération en août et une cinquième en septembre.

Les larves de la cinquième génération sont demeurées jusqu'au milieu d'octobre sans fournir d'insectes parfaits. Ceux, en petit nombre, qui sont issus des larves à cette époque, conservés

à la température atmosphérique, ont vécu jusqu'au 10 novembre, alimentés avec du glucose. Une femelle, qui a consenti à piquer, a donné une ponte de 60 œufs qui n'ont pas éclos.

Tous les individus adultes provenant de pontes diverses, qui avaient vécu jusqu'en novembre, sont morts dans les premiers jours de ce mois.

De cette expérience, prolongée durant les six mois de saison chaude sous notre climat, il résulte que la température atmosphérique de juin à septembre permet au *St. f.* de se multiplier, à la condition de résider dans l'intérieur des maisons. Les cuisines surtout lui offrent un habitat favorable. Il est plus que douteux que la multiplication, à l'état libre, puisse avoir lieu hors des mois de juillet et août, dont les minima nocturnes s'abaissent rarement au-dessous de 20°. En effet par des températures inférieures, le *St. f.* devient paresseux et surtout perd son ardeur à piquer, qui est la condition de sa multiplication.

Ces notions sont de la plus grande importance au point de vue de la protection sanitaire des ports. Elles doivent servir de base aux mesures prophylactiques qu'il convient d'appliquer, suivant la saison, lorsqu'un navire arrive au port après avoir présenté, au cours de la traversée, des cas de fièvre jaune parmi son personnel.

## II

### CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE MOUSTIQUES

L'importance prise par les moustiques dans la pathologie exotique, comme véhicules de maladies, et l'intérêt qui s'attache à la conservation des échantillons au point de vue de la détermination des espèces, nous ont conduits à rechercher un moyen de conservation autre que le piquage à l'épingle sur carton ou l'immersion dans les liquides conservateurs. Ces deux procédés d'usage courant offrent, en effet, de graves défauts : le premier, ceux de détériorer le corps de l'insecte en le traversant avec une épingle et de le laisser exposé ensuite aux poussières et aux moisissures de l'air; le second facilite le détachement des membres et entraîne la disparition des couleurs de la cuirasse écailleuse.

Nous nous sommes arrêtés à un procédé qui consiste à

enfermer l'insecte dans une cellule de verre où il est fixé dans une position naturelle. par collage de ses pattes au baume de Canada. Nous croyons utile d'en donner ici la description, en vue de faciliter leur tâche aux collectionneurs :

On commence par asphyxier le moustique, placé dans un tube bien sec, au moyen d'une goutte d'éther versée à l'orifice du tube. Dès que l'insecte tombe anesthésié, on lui fait prendre dans le tube tenu horizontalement, au moyen de quelques secousses, la position naturelle de repos, les jambes bien étendues. On attend ensuite que l'asphyxie ait amené la mort dans cette position, ce qui demande quelques instants.

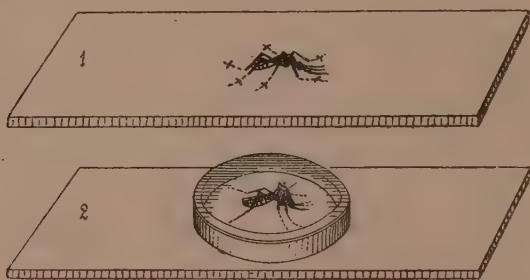
Quand on a la certitude que le moustique est bien mort, on le fait glisser doucement hors du tube et tomber sur une lame de verre porte-objet, en ayant soin qu'il conserve la position naturelle où il est immobilisé. Au besoin, on rectifie cette position à l'aide d'une aiguille montée.

Le moustique étant bien en place sur la lame de verre dans la position où il doit être conservé, on procède au collage. A cet effet, on doit se munir de deux aiguilles montées, fines, et avoir à sa portée du baume de Canada moyennement fluide, à un état tel qu'il file facilement. On charge de baume la pointe d'une aiguille tenue de la main gauche. Sur cette petite provision on prélève avec la pointe de l'autre aiguille une très fine gouttelette qu'on dépose, à côté du tarse d'une des pattes de l'insecte, sur le verre. On fait ensuite passer la pointe de la même aiguille par-dessus le tarse de la patte et on lui fait toucher le verre du côté opposé, afin d'y coller le fil de baume entraîné par le mouvement de l'aiguille. Celle-ci est ramenée au contact de la gouttelette déposée près du tarse, et on la fait repasser ainsi un certain nombre de fois au-dessus de la patte, en touchant alternativement le verre de chaque côté et en évitant, avec grand soin, de heurter cette patte pour ne pas la coller à l'aiguille et déplacer le moustique. A chaque passage au-dessus de la patte, le fil de baume, qui suit le mouvement de l'aiguille, s'applique sur le tarse et le lie au verre de chaque côté. L'ensemble des anses formées par les fils tenus de baume qui passent sur la patte se fondent en un cordon qui, une fois sec, la maintient solidement attachée au verre. On recommence la même opération pour chacune des pattes; après quoi, le moustique se trouve



fixé et prêt à être enfermé dans la cellule de verre. Avant de l'en recouvrir, il est bon de le laisser se dessécher pendant quelques heures, soit sous une cloche où l'on a placé du chlorure de calcium, soit simplement dans une boîte, à l'abri des poussières, si le temps est très sec. Nous avons parfois exposé le moustique ainsi préparé aux vapeurs de formol pour empêcher le développement ultérieur de moisissures. Cette précaution est inutile, si l'on opère par un temps sec.

Il ne reste plus qu'à recouvrir l'insecte d'une cellule de verre. On confectionne cette cellule en collant au baume, sur la lame, un anneau de verre de 4 à 6 millimètres de hauteur et d'un diamètre variable suivant l'espace qu'occupe le moustique étalé. Sur cet anneau on fixe, également au baume, une lamelle couvre-objet du même diamètre, ronde et forte.



La préparation, une fois sèche, peut se transporter dans les boîtes à préparations ordinaires, sans aucun risque de détérioration. Les moustiques, bien montés par ce procédé, conservent tous leurs caractères, il est facile de les étudier sur toutes leurs faces, soit à la loupe, soit au microscope avec des objectifs à long foyer. Le microscope binoculaire est particulièrement commode pour cette étude.

Nous avons constaté que les *Stegomyia fasciata*, montés de cette manière depuis deux années, présentaient toujours avec la même netteté les zébrures qui les caractérisent. La seule différence qu'ils manifestent avec des individus à l'état frais, c'est que les parties argentées ont légèrement pâli.

Avec un peu d'habitude, le montage d'un moustique au baume de Canada n'exige pas plus de 10 minutes.

## III

## FIÈVRE JAUNE INFANTILE ET FORMES FRUSTES DE FIÈVRE JAUNE

Si l'on s'en rapporte aux historiens les plus autorisés de la fièvre jaune, on peut penser que cette maladie est exceptionnelle dans l'enfance. Corre <sup>1</sup> dit qu'elle est rare dans l'enfance et dans la vieillesse. Béranger Féraud <sup>2</sup>, après avoir constaté que des opinions très diverses ont été émises sur ce sujet, conclut de l'examen des statistiques que « les enfants sont sensiblement moins exposés que les adultes à la fièvre jaune et que chez eux la maladie est plus bénigne ». La Roche <sup>3</sup> établit que l'immunité relative de l'enfance et de la vieillesse, ressort de la plupart des écrits se rapportant aux épidémies amarilles des Antilles et de l'Amérique centrale. Les médecins brésiliens tels que Rego de Lavradio, qui ont observé les premières épidémies signalées à Rio-de-Janeiro de 1850 à 1868, ont relaté que la maladie frappait de préférence les adultes; et J. M. Teixeira fait remarquer que, si ces médecins ne se sont pas étendus sur les caractères de la fièvre jaune chez l'enfant, c'est que l'enfance était généralement épargnée.

Bien que la plupart des auteurs soient arrivés à cette conclusion que l'enfance est moins apte que l'âge adulte à contracter la maladie, nous voyons que certains d'entre eux ont signalé des épidémies où elle frappait les enfants. Byan dit qu'à Antigua, en 1793, les enfants étaient attaqués aussi bien que les adultes. Le même fait est signalé par Clark à la Dominique en 1793, par Fullok à la Jamaïque en 1819, par Catel à la Martinique en 1838, par Chapuit pour la même région en 1852, par Arnold à Antigua en 1853. A la Nouvelle-Orléans, en 1853, la mortalité des enfants fut aussi très élevée.

Enfin, J. M. Teixeira affirme que la mortalité par la fièvre jaune chez les enfants, qui était très faible à Rio-de-Janeiro lors des épidémies de 1850 à 1873, s'est beaucoup élevée à partir de cette époque. Ses recherches mettent en évidence que, dans la période de 1868 à 1876, la moyenne des décès d'enfants au-dessous de 7 ans n'est que de 17 pour 1.000 décès, tandis que, pour la période de 1882 à 1894, elle atteint 42 pour 1.000.

1. CORRE, *Traité des fièvres des pays chauds*.

2. BÉRANGER FÉRAUD, *Traité de la fièvre jaune*.

3. LA ROCHE, *Yellow fever*, 1855.

Notons que tous ces auteurs ont en vue l'enfance en général, et n'ont point recherché si les choses se passaient identiquement de la naissance à la quinzième année.

En présence de résultats et d'affirmations contradictoires émanant le plus souvent d'excellents observateurs, nous avons recherché les raisons de ces divergences et abordé l'étude de la morbidité et de la mortalité infantiles, dans les épidémies de fièvre jaune.

Un premier point, établi tant par les observations anciennes que par nos recherches personnelles, c'est qu'à aucune période de l'existence, l'organisme humain n'est réfractaire à la fièvre jaune :

1<sup>o</sup> La fréquence de l'avortement avec expulsion du fœtus mort, chez les femmes atteintes de fièvre jaune dans le cours de la grossesse, tend à montrer que la mère peut transmettre la maladie au fœtus, comme cela se passe dans beaucoup de maladies infectieuses.

Elle peut la transmettre également à l'enfant à terme et celui-ci venir au monde ayant déjà la fièvre jaune : tel est le cas, enregistré pendant l'épidémie de Barcelone en 1821, d'un enfant qui présenta des vomissements noirs 28 heures après la naissance et succomba au bout de 32 heures ; tel est encore le cas, relevé à Rio-de-Janeiro par J. M. Teixeira, d'un enfant qui mourut dans la première journée, étant né d'une mère atteinte de fièvre jaune avant l'accouchement.

2<sup>o</sup> La fièvre jaune peut atteindre l'enfant dans les premiers mois de la vie et le Dr Seidl, à Rio-de-Janeiro, en a constaté divers cas dans sa clientèle, au cours des épidémies les plus récentes.

3<sup>o</sup> Il est facile de retrouver des observations de fièvre jaune chez des enfants au-dessus de l'âge d'un an. Ces cas infantiles se manifestent dans la plupart des épidémies. Nous avons eu l'occasion d'en voir un assez grand nombre pendant notre séjour à Rio-de-Janeiro.

4<sup>o</sup> L'âge adulte semble particulièrement favorable à la fièvre jaune. Ce n'est là qu'une apparence, résultant de ce que les étrangers, qui fournissent aux épidémies le plus grand nombre de victimes, sont généralement adultes quand ils arrivent dans le foyer. Quoi qu'il en soit, c'est à cet âge qu'on observe le plus de cas.



5° Enfin, si les adultes constituent la majorité des malades, il n'est point rare de voir des amarilliques ayant dépassé la cinquantaine. Nous avons pu relever des cas chez des vieillards de 70, 73, 77 et 78 ans.

Puisque l'homme est, à tout âge, sensible à la fièvre jaune, on doit se demander pour quels motifs tous les âges ne sont pas également frappés au cours d'une épidémie.

Si nous considérons un foyer endémique tel que Rio-de-Janeiro, par exemple, nous voyons qu'il faut tout d'abord, au point de vue de la sensibilité à la maladie, diviser la population en deux catégories : d'une part, la population native, composée des individus nés et élevés à Rio de Janeiro où ils ont continué d'habiter; d'autre part, la population étrangère, composée de tous les éléments étrangers ou nationaux nés en dehors de Rio, soit dans l'intérieur du Brésil, soit dans un autre pays, qui sont venus s'établir dans le capitale brésilienne d'une façon temporaire ou définitive.

La fièvre jaune se comporte très différemment vis-à-vis de chacune de ces deux catégories.

Parmi la population étrangère, il est très peu d'individus, quels que soient leur sexe ou leur âge, chez lesquels on ne puisse relever une atteinte de fièvre jaune légère ou grave, survenue le plus souvent au cours de la première année de leur séjour à Rio, d'autres fois, pendant la seconde ou la troisième, bien plus rarement après un délai dépassant quatre années.

Le nombre des étrangers résidant d'une manière continue dans la ville de Rio, qui échappent complètement à la fièvre jaune au cours d'un séjour prolongé, est extrêmement restreint. Les sujets adultes formant la grande majorité de cette catégorie, il est tout naturel qu'ils fournissent le plus grand nombre des cas.

Si l'on tient compte de la proportion des enfants, on constate que non seulement la mortalité chez eux est moindre que chez les adultes, mais encore que cette mortalité, parmi les enfants étrangers, est beaucoup moins considérable pour ceux âgés de moins de 5 ans que pour ceux de 8 à 16 ans. Bien que l'on puisse observer des cas mortels dès la première enfance, c'est là une rare exception; il ressort de nos recherches que la proportion des cas mortels infantiles est à peu près en raison

directe de l'âge des enfants, entre la première et la seizième année.

On voit souvent la fièvre jaune attaquer tous les membres d'une famille récemment installée dans la ville, frapper sévèrement les adultes ou même les adolescents et déterminer, chez les jeunes enfants, des atteintes si légères qu'on hésite à attribuer ces malaises éphémères à la même maladie.

Parmi les nombreuses observations de ce genre que nous avons recueillies, nous pouvons citer celle d'une famille portugaise : Trois mois après leur arrivée à Rio, la mère et les 4 enfants âgés l'un de 2 ans, un autre de 5, un autre de 8 et le 4<sup>e</sup> de 9, sont entrés à l'hôpital avec la fièvre jaune.

La mère a éprouvé une atteinte relativement bénigne dont elle a guéri. L'ainé des enfants a présenté une forme grave avec délire, hémorrhagies, vomissements noirs. Il a succombé au bout de 13 jours. Chez le cadet la maladie a duré 8 jours. Elle s'est accompagnée d'hémorrhagies et de vomissements noirs ; néanmoins il a guéri après une convalescence assez longue. Les deux plus jeunes enfants de 2 et 5 ans ont présenté une forme extrêmement bénigne dont ils ont guéri très rapidement.

On peut relever des exemples analogues dans toutes les épidémies de Rio-de-Janeiro. On s'explique par suite que les statistiques de mortalité enregistrent, parmi la catégorie étrangère, presque exclusivement des décès d'adultes.

Si nous examinons maintenant ce qui se passe chez la population native, nous verrons qu'il n'en est plus de même. Dans cette catégorie, les cas de maladie, parmi les adultes, constituent une exception, on peut dire une rareté. Cependant il est peu de familles qui n'aient vu, à un moment, la fièvre jaune frapper quelqu'un de leurs membres. Mais, fait remarquable, c'est presque toujours sur des adolescents ou sur des enfants déjà âgés de plusieurs années, qu'on a diagnostiqué une atteinte plus ou moins grave. On signale bien rarement des cas chez de très jeunes enfants, et les adultes sont, d'une manière générale, très manifestement à l'abri. Il faut ajouter que, parmi les adolescents qui sont victimes de la fièvre jaune, un assez grand nombre ont vécu dès le bas âge hors de la ville de Rio, au moins pendant la saison annuelle de l'épidémie. C'est en effet

une pratique courante, chez les familles fortunées de cette ville, de n'y séjourner, la femme et les enfants tout au moins, que pendant la période hivernale et de passer à la campagne les premiers mois de l'année, qui sont à la fois des mois de chaleur et d'épidémie dans la capitale.

En résumé, on constate pour la catégorie étrangère une sensibilité à la fièvre jaune égale à tous les âges, avec une mortalité très faible chez les enfants jeunes, plus marquée chez les adolescents et très forte chez les adultes. Pour la catégorie native, au contraire, la sensibilité apparaît pour ainsi dire nulle chez les adultes, tout en restant faible chez les adolescents et très faible, au moins en apparence, chez les enfants jeunes.

La mortalité, presque insignifiante chez ces derniers, est plus grande chez les adolescents. Chez les adultes les cas sont extrêmement rares, mais ont un caractère de gravité généralement plus accusé que chez les jeunes sujets et sont plus fréquemment suivis de mort. Dans la statistique des décès d'une épidémie, on voit que les adultes natifs figurent en nombre insignifiant par rapport aux adultes étrangers, tandis que les enfants natifs forment plus de la moitié du contingent des décès infantiles.

Le fait frappant qui se dégage de cette comparaison, c'est qu'à partir de l'adolescence les résidents natifs sont, d'une manière presque absolue, à l'abri de la fièvre jaune, tandis que les résidents étrangers y sont exposés dès leur arrivée, quel que soit leur âge.

Presque tous les auteurs qui ont parlé de la fièvre jaune chez les enfants ont en vue la période des 10 ou 15 premières années de l'existence. Seul, J. M. Teixeira a établi une distinction entre les enfants âgés de moins d'une année et ceux âgés de 1 à 7 ans et au-dessus. Cette distinction est du plus haut intérêt, dans la recherche des causes qui mettent la population native adulte à l'abri de la maladie.

Les statistiques des épidémies qui se sont succédées à Rio, depuis 1850, sont tout à fait incomplètes en ce qui touche la morbidité; nous ne pouvons donc en extraire que les chiffres de mortalité pour la période de la première enfance. Encore ces chiffres ne se retrouvent-ils pas pour les épidémies de 1850 à 1867 et pour celles de 1877 à 1881. Le tableau suivant indique



la mortalité des enfants au-dessus de 1 an, pour les années où la statistique a enregistré l'âge auquel se sont produits les décès<sup>1</sup>.

*Mortalité par fièvre jaune chez les enfants au-dessous d'un an à Rio-de-Janeiro.*

Années.	Enfants au-dessous de 1 an.	Total des décès de fièvre amarille à tous les âges.
1868	0	3
1869	0	272
1870	2	1.018
1871	0	8
1872	0	102
1873	9	3.467
1874	1	829
1875	1	1.292
1876	2	3.317
1882	0	89
1883	2	1.356
1884	4	579
1885	5	374
1886	14	1.045
1887	0	00
1888	0	529
1889	19	1.454
1890	1	719
1891	7	4.456
1892	20	4.312
1893	0	825
1894	0	4.852
1895	1	818
1896	4	2.929
1897	1	159
1898	0	1.078
1899	0	731
1900	0	344
1901	0	299
1902	0	984
1903	0	584
1904	0	48
	93	38.942

Voici donc une série de 32 épidémies qui ont fourni un total de 38,942 décès et où l'on a enregistré en tout 93 décès d'enfants au-dessous d'un an, soit 1 décès d'enfant sur 418 décès de tout âge. Même si l'on admet que les notifications des décès infantiles par fièvre jaune n'aient pas été faites d'une façon rigoureuse et qu'un certain nombre aient échappé à la statistique, on ne peut s'empêcher d'être surpris de leur faible proportion. En prenant, par exemple, l'épidémie où

1. Nous devons à l'obligeance du Dr Bulhoès de Carvalho, chef du service de la statistique sanitaire à Rio-de-Janeiro, les documents qui nous ont permis d'établir nos tableaux de mortalité infantile.

On a relevé le plus grand nombre de ces décès, celle de 1892, on trouve 1 décès infantile sur 215.

Les statistiques ne disent pas si ces décès ont porté sur la population étrangère ou sur la population native, mais il est facile de se rendre compte qu'ils ont frappé presque exclusivement des jeunes enfants de cette dernière catégorie. En effet, il est exceptionnel que les familles étrangères qui viennent résider à Rio comptent, parmi leurs membres, des enfants ayant moins d'un an au moment de leur arrivée. Pour ceux qui naissent à Rio de parents étrangers, ils doivent tout naturellement être comptés dans la population native. D'autre part les statistiques de mortalité par fièvre jaune des enfants de tout âge montrent que, pour les épidémies où la nationalité a été enregistrée, la majorité des jeunes victimes sont d'origine brésilienne.

Cette étude statistique met en relief la différence que présente la mortalité chez les enfants en bas âge, avec la mortalité à un âge plus avancé.

De la 2<sup>e</sup> à la 7<sup>e</sup> année, la mortalité est encore très faible, beaucoup plus marquée toutefois que dans le cours de la première. Il ressort des statistiques de J. M. Teixeira<sup>1</sup> que les épidémies survenues à Rio-de-Janeiro, de 1868 à 1876, et de 1882 à 1894, soit une série de 22 années, ont causé 30.728 décès au total, parmi lesquels 110 décès d'enfants au-dessous d'un an et 1.193 décès d'enfants âgés de 1 à 7 ans. C'est-à-dire que, pour cette série épidémique, on a relevé 1 décès d'enfant de chacune des 6 années allant de la 1<sup>re</sup> à la 7<sup>e</sup> sur 154 décès, et, seulement 1 décès d'enfant au-dessous d'un an, sur 279 décès. Ces tableaux statistiques montrent que la mortalité, si faible dans la première année, s'élève à partir de ce moment, tout en restant sensiblement la même pour chacune des années de la 2<sup>e</sup> jusqu'à la 7<sup>e</sup>, et qu'elle continue de s'accroître après la 7<sup>e</sup> année. Notons encore, à propos de la mortalité chez les enfants, qu'à partir de l'âge d'un an on diagnostique une notable proportion d'atteintes de fièvre jaune non suivies de mort. Au contraire, il semble qu'au cours de la première année les cas mortels seuls ont été diagnostiqués.

1. Le tableau des statistiques de J. M. Teixeira diffère un peu du tableau de la page 130, lequel a été puisé aux sources officielles.

Il n'est pas douteux que les enfants en bas âge fournissent un très petit nombre de victimes aux épidémies de fièvre jaune. Les chiffres statistiques de la mortalité infantile par cette maladie le manifestent. Mais si l'on supposait que ces chiffres sont entachés d'erreur et que nombre de petits enfants peuvent mourir de fièvre jaune sans que leur cas soit diagnostiqué, nous pouvons encore, pour confirmer ce fait, invoquer la comparaison de la mortalité totale annuelle de toutes causes, des enfants au-dessous d'un an, au nombre total des décès de fièvre jaune. Le tableau suivant qui embrasse les 15 dernières années, montre que la mortalité générale infantile n'est pas influencée par les épidémies amarilles.

*Tableau comparatif des décès occasionnés à Rio-de-Janeiro de 1890 à 1904, par la fièvre jaune, chez les enfants au-dessous d'un an, par rapport à la mortalité totale du même âge et à la totalité des décès par fièvre jaune.*

Années.	Mortalité par fièvre jaune enregistrée par la statistique des enfants au-dessous de 1 an.	Mortalité totale des enfants au-dessous de 1 an	Mortalité totale à tous les âges par fièvre jaune
1890.....	1	2.350	719
1891.....	7	3.522	4.436
1892.....	20	2.782	4.312
1893.....	0	2.439	825
1894.....	0	2.654	4.852
1895.....	1	2.884	818
1896.....	4	3.064	2.929
1897.....	1	2.920	159
1898.....	0	2.804	1.078
1899.....	0	2.981	731
1900.....	0	2.400	344
1901.....	0	2.638	299
1902.....	0	2.806	984
1903.....	0	2.790	584
1904.....	0	3.365	48
	34	42.399	23.138

On peut remarquer dans ce tableau que les années 1891 et 1904, qui ont fourni les plus hauts contingents de décès d'enfants, coïncident, la première avec une très forte épidémie de fièvre jaune ayant déterminé 4.456 décès, la seconde avec une épidémie extraordinairement faible ayant déterminé 48 décès seulement.

Cet accroissement de décès infantiles en 1891 et 1904 n'est pas le fait de la fièvre jaune. Nous en trouvons l'explication



dans les épidémies de variole qui ont marqué ces deux années. Elles ont occasionné 3.944 décès en 1891 et 3.566 en 1904, contre une moyenne de 600 décès pour les autres années. Le large tribut payé par l'enfance à la variole, justifie l'accroissement de décès si considérable pour ces deux années. D'une façon générale, ce tableau témoigne nettement qu'il n'y a pas de relation entre le chiffre de la mortalité de cet âge et l'importance des épidémies de fièvre jaune.

De ce que la fièvre jaune détermine un nombre insignifiant de décès dans la première enfance, doit-on conclure, avec la plupart des auteurs, qu'à cette période de l'existence l'espèce humaine est moins exposée à la contracter, qu'il y ait pour l'enfant jeune une immunité qui se perd progressivement à mesure qu'il s'achemine vers l'âge adulte? S'il en était ainsi on devrait admettre que, pour la catégorie native, l'immunité généralement solide au cours de la première année de la vie, s'affaiblit pendant la seconde enfance qui fournit un certain nombre de cas et de décès, pour redevenir solide à l'âge adulte.

Au contraire, dans la catégorie étrangère, l'immunité, comparable à ce qu'elle est pour la catégorie native pendant la première et seconde enfance, deviendrait nulle chez les adolescents et les adultes. Une telle conception est inconciliable avec notre connaissance moderne de la fièvre jaune et de son mécanisme.

Jusqu'à la fin du siècle dernier, on a, dans le cours des épidémies, compté comme cas de fièvre jaune, ceux-là seuls où le malade présentait l'ensemble des symptômes caractéristiques permettant d'établir le diagnostic clinique. A la vérité, dans maintes circonstances, les médecins enregistraient des cas abortifs où les symptômes principaux, tels que l'albuminurie, les vomissements, faisaient défaut. Souvent on observait que dans une famille, à côté d'un membre atteint de fièvre jaune typique, d'autres accusaient une indisposition d'allure suspecte; mais, ce n'est qu'avec timidité et avec beaucoup de réserves, qu'en osait attribuer ces indispositions à la même cause. Le critérium faisait défaut.

A partir du moment où l'on a saisi l'agent de la maladie et où l'on a pu, avec cet agent, la reproduire d'une manière expérimentale,

tales, on a constaté que les cas expérimentaux étaient loin de réunir toujours l'ensemble de symptômes et les conditions de gravité nécessaires, pour établir cliniquement le diagnostic. C'est ainsi que, parmi les sujets qui se sont prêtés à nos expériences, nous avons déterminé, au moyen, soit des piqûres de *Stegomyia* infectés, soit des injections de sérum virulent, tantôt des cas graves, tantôt des cas moyens, mais encore typiques, tantôt enfin des cas légers ne présentant, à l'examen clinique, aucun symptôme caractéristique qui eût permis d'asseoir le diagnostic. Ce diagnostic ne pouvait être affirmé que parce que la maladie était déterminée par une inoculation expérimentale.

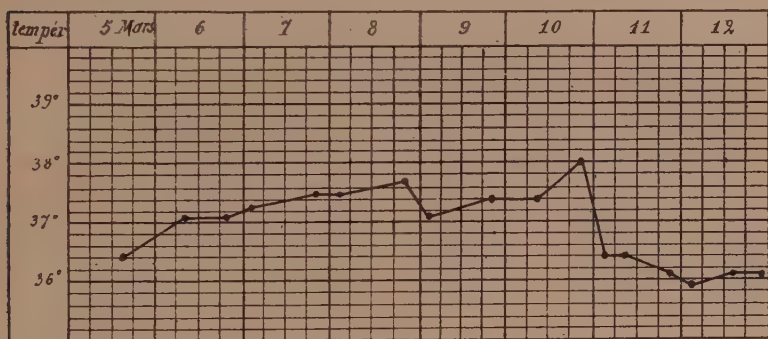
Entre les mains de Reed, Carrol et Agramonte, de Guitteras, de Ribas, A. Barreto, de Barros et Rodriguez, l'expérimentation a produit des cas semblables en une proportion inattendue, si bien que des médecins sceptiques ont cru pouvoir affirmer que les piqûres de *Stegomyia*, infectés sur des amarilliques, provoquaient une indisposition passagère absolument étrangère à la fièvre jaune.

Nous avons voulu avoir la preuve que ces cas légers ne se présentaient pas exclusivement à la suite d'inoculations expérimentales, qu'ils se rencontraient dans les conditions naturelles. A cet effet, nous avons choisi un certain nombre de cas douteux parmi ceux qui étaient soumis à notre examen à Rio-de-Janeiro. Ces malades, nouveaux arrivés au Brésil, avaient présenté une atteinte fébrile légère simulant un embarras gastrique. L'atteinte ne s'était accompagnée ni de rachialgie, ni de céphalée caractéristiques; elle n'avait été suivie ni d'albuminurie, ni de vomissements noirs, ni d'hémorrhagie, ni d'ictère. Les médecins qui nous adressaient ces malades étaient convaincus qu'il s'agissait d'une affection sans gravité, grippe ou embarras gastrique, entièrement étrangère à la fièvre jaune. Cependant, en raison de leur habitation dans un foyer amaril et de l'absence de toute suspicion de paludisme chez eux, nous avons cru devoir rapporter à la fièvre jaune la maladie bénigne et éphémère qui avait frappé ces sujets. Quelques jours après la disparition de l'accès fébrile, en vue de confirmer notre diagnostic, nous les avons soumis à la piqûre d'un certain nombre de *Stegomyia* infectés. Dans les 4 cas où l'expérience a été faite, ces piqûres n'ont amené aucun résultat.

Il est donc certain que chacun de ces malades était immunisé par une atteinte antérieure; c'est-à-dire que l'accès fébrile que nous avons observé, constituait un cas de fièvre jaune bénigne. Nous donnons ci-après les observations résumées de ces 4 cas.

## OBSERVATION.

R. V., âgé de 23 ans, arrivé d'Espagne au Brésil depuis 3 mois, n'a jamais été malade dans cet intervalle. Il ressent au 5 mars un malaise général et de la rachialgie. Au 6 mars, la langue est saburrale, l'épigastre



est légèrement sensible à la pression, la température est très peu au-dessus de la normale. Il n'y a pas de douleurs et peu de faiblesse générale. La fièvre, très peu élevée, a persisté jusqu'au 11 mars. A aucun moment il n'y a eu d'albumine dans les urines ni d'ictère. Le malade a guéri très rapidement après la chute de la température. On avait diagnostiqué un embarras gastrique fébrile.

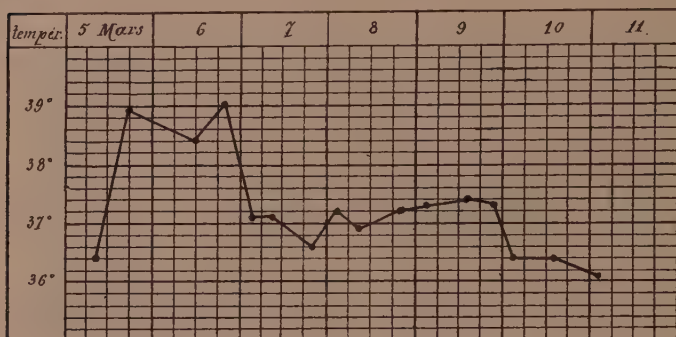
Ce sujet a été piqué 4 jours après la guérison, par 5 *Stegomyia fasciata* infectés sur un malade de fièvre jaune le 17 février. Il n'a manifesté aucune réaction à la suite de ces piqûres.

## OBSERVATION.

M. F., arrivé au Brésil depuis 3 mois, n'a jamais été malade dans cet intervalle. Le 5 mars 1905 il a éprouvé dans la matinée des maux de tête et un peu de malaise. Le soir, la température s'est élevée et l'on constate un peu de bronchite. Au 6 mars, il présente des symptômes d'embarras gastrique, les maux de tête persistent, ainsi que l'engouement des bronches; il tousse et expectore peu. La fièvre est tombée le 7 mars, et en même temps tous les symptômes se sont amendés. Il n'a présenté, à aucun moment, d'albumine dans les urines. Son cas a été considéré comme grippe. A partir du 10 mars la santé est redevenue normale.



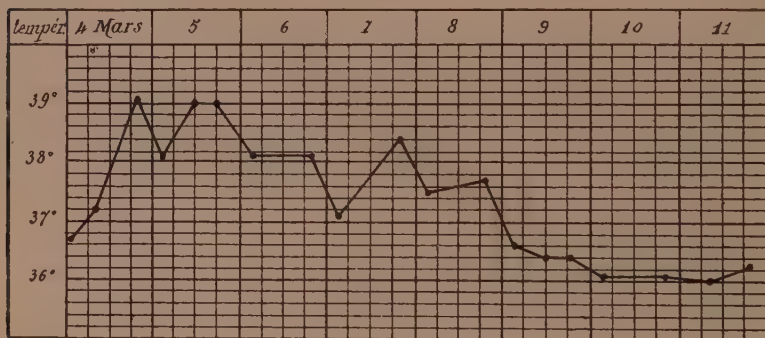
On a fait piquer ce malade, après la guérison, par 6 *Stegomyia fasciata*



infectés le 17 février sur un malade atteint de fièvre jaune. Aucune réaction n'a suivi les piqûres.

#### OBSERVATION.

J. C., âgé de 24 ans, arrivé au Brésil depuis 2 mois, a ressenti le 4 mars 1905, à midi, un frisson suivi le soir de céphalalgie et de fièvre. La langue est saburrale, avec les bords rouges. Pas d'albumine dans les urines durant tout le cours de la maladie. La fièvre et la faiblesse ont persisté



jusqu'au 8 mars, avec un état général très satisfaisant. Il peut se lever dès le 8 mars. Pas d'ictère. Convalescence rapide. Il avait été envoyé à l'hôpital avec le diagnostic : Embarras gastrique fébrile.

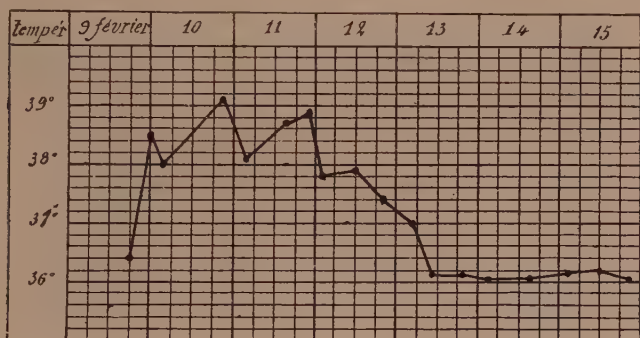
Ce sujet a été piqué, cinq jours après la guérison par 8 *Stegomyia fasciata* infectés sur un malade de fièvre jaune au 2<sup>e</sup> jour, le 16 février.

Il n'a présenté aucune réaction à la suite de ces piqûres.

#### OBSERVATION.

M. B., âgé de 23 ans, arrivé au Brésil depuis 1 an, n'a jamais été malade depuis cet intervalle. En revenant de son travail, le 9 février 1905, à

5 heures du soir, il éprouve une sensation de malaise, céphalalgie, rachialgie légère et lassitude générale. La fièvre se manifeste dans la nuit et dure jusqu'au 12 février avec de légères rémissions matinales. L'état général est assez bon, il n'éprouve ni douleurs de tête ni douleurs lombaires pendant les journées du 10 et du 11 février. La langue est légèrement saburrale. Aucune trace d'albumine dans les urines. L'estomac est un peu sensible à la



pression. Il paraît revenu à la santé à partir du 14 février. Le diagnostic de grippe a été porté par le médecin traitant.

8 jours après la guérison, on fait piquer ce sujet par 6 *St. f.* infectés depuis 23 jours sur un malade de fièvre jaune. Les piqûres n'ont été suivies d'aucune réaction.

On ne saurait nier aujourd'hui, le fait étant basé sur des expériences, que les cas de fièvre jaune qui échappent à la statistique d'une épidémie, en raison de la difficulté du diagnostic, sont infiniment plus nombreux qu'on aurait pu le supposer jadis.

L'observation nous a montré que ces cas légers sont assez fréquents à l'âge adulte, mais qu'ils le sont bien davantage encore dans les premières années de l'existence. On peut presque dire que leur nombre, parmi la population infantile exposée à une épidémie, croît en raison inverse de l'âge des sujets. Et l'on ne saurait être surpris, désormais, de constater que la mortalité, dans le jeune âge, soit proportionnellement moins élevée pour les adolescents que pour les adultes et pour les enfants que pour les adolescents.

Les résultats expérimentaux que nous venons d'indiquer et les considérations qui précèdent, nous conduisent naturellement à cette conclusion que si, dans le premier âge, la morta-

lité amarille est extrêmement réduite, cela tient non à un degré particulier d'immunité chez les enfants, mais à des moyens de défense, chez l'organisme jeune, qui vont s'affaiblissant jusqu'à l'âge adulte; que la proportion des cas de fièvre jaune parmi les enfants au-dessous d'un an, loin d'être inférieure à celle observée chez ceux plus âgés ou chez les adultes de la catégorie étrangère, est aussi considérable, sinon davantage; que la rareté apparente des cas de la première enfance, résulte de ce que ces cas sont presque toujours trop bénins pour être diagnostiqués et, par conséquent, échappent en majorité à l'observation médicale la plus attentive. Ce fait important a été dès longtemps soupçonné par quelques rares observateurs, entre autre Guitteras<sup>1</sup>; les notions expérimentales acquises dans ces dernières années étaient nécessaires pour l'établir.

Les données de la clinique sur la fièvre jaune des enfants à la mamelle sont trop vagues pour en tirer d'importants enseignements au point de vue qui nous occupe. La description des formes de la maladie dans l'enfance, faite par J. M. Teixeira et les autres auteurs, s'applique surtout à des cas observés au-dessus de l'âge d'un an. Cependant, il est un fait constaté par divers cliniciens et en particulier par le Dr Carlos Seidl, directeur de l'hôpital de la fièvre jaune à Rio-de-Janeiro : c'est que, lorsqu'on s'aperçoit qu'un petit enfant est atteint de fièvre jaune, presque toujours il est à la période du vomissement noir et que la mort suit de très près la constatation de son état morbide. Faut-il en conclure que la maladie, chez lui, ne comprend qu'une période, la dernière, qu'elle commence avec les hémorrhagies du tube digestif suivies au bout de quelques heures par le vomissement noir, précurseur presque immédiat de la mort?

Nous ne le croyons pas. Nous savons qu'à un âge plus avancé, les hémorrhagies et les vomissements noirs surviennent chez le malade vers le 4<sup>e</sup> jour généralement, jamais au début de la maladie; qu'ils constituent un symptôme tardif de la plus haute gravité et caractérisent une période de la fièvre amarille à laquelle n'arrivent jamais les cas légers. Il nous paraît

1. GUITTERAS, *La fiebre amarilla considerada como enfermedad de la infancia. Cronica medico-quirurgica de la Habana*, 1894.



rationnel d'admettre que, chez les jeunes enfants, il en est de même. Mais tandis que chez l'adulte le cours de la maladie, jusqu'à la période de vomissements noirs, est marqué par une réaction générale intense avec son cortège de fièvre, de douleurs, d'albuminurie, nous pensons que chez le petit malade les phénomènes de cette première phase de la maladie, tout en ayant une durée de plusieurs jours, sont assez atténués pour passer inaperçus de l'entourage. Si le cas est léger, il demeure ignoré ou bien on attribue à l'enfant une simple indisposition; s'il est grave, la fièvre jaune n'est révélée qu'à la dernière période par le vomissement noir. L'allure spéciale du cas mortel, chez le jeune enfant, confirme la facilité avec laquelle les cas légers échappent à l'observation. Cela est vrai surtout pour les enfants à la mamelle; toutefois, la fièvre jaune revêt quelquefois les mêmes allures chez des enfants plus âgés. Nous en avons eu maints exemples sous les yeux, bornons-nous à en citer deux :

Une mère, polonaise d'origine, à Rio depuis moins d'un an, se présente à l'hôpital avec une fièvre jaune grave et déjà au 4<sup>e</sup> jour de la maladie. Entrée le 30 mai 1902, elle était morte le 1<sup>er</sup> juillet. Avec elle étaient venus ses deux enfants, faute de domicile; ils ont été hospitalisés avec la mère et gardés après le décès de celle-ci, en attendant la fin des démarches entamées avec le consulat par l'Administration.

Le 14 juin, tous les deux tombent malades, le petit garçon âgé de 6 ans devient grognon et paraît agité, sa température monte à 39°. On le couche et on examine en même temps sa petite sœur âgée de 2 ans, qui joue tranquillement sur son lit. Elle aussi a 39°. Le soir tous les deux dorment. On constate que le premier a 40° et la fillette 39°.4. Le lendemain ils se réveillent très gais, demandant à manger. Le petit garçon a cependant 39° et sa sœur 38°.

Devant cet état général le pronostic paraît bon, mais le diagnostic est réservé. Cette réserve s'est justifiée, car le petit garçon, en bonne santé apparente, a présenté le 7 au soir un vomissement noir qui a levé tous les doutes. Le lendemain matin il succombait.

La petite fille est restée en bon état, sa température a fléchi rapidement et elle était guérie à l'heure où son frère mourait.

Ces deux observations, très intéressantes, peuvent rester

comme les types de maladie chez les petits enfants. La maladie s'est montrée très bénigne chez l'un, très grave chez l'autre, malgré les apparences trompeuses de l'état général.

Le cas suivant montre la facilité avec laquelle une atteinte de fièvre jaune peut passer inaperçue chez les petits enfants.

Une femme de nationalité allemande, récemment arrivée au Brésil, est entrée à l'hôpital Saint-Sébastien avec la fièvre jaune. Elle a présenté un cas typique et a succombé en peu de jours.

Cette femme avait avec elle son enfant qu'elle allaitait. L'état général de cet enfant paraissait excellent et il continuait à téter régulièrement. Cependant, comme le soir du premier jour il s'était montré un peu grognon, on eut l'idée de prendre sa température. On put ainsi constater qu'il avait, lui aussi, la maladie. Sa température s'éleva le 1<sup>er</sup> jour à 39°5, le second à 38° et le 3<sup>e</sup> jour elle était revenue à la normale sans qu'il eût cessé de s'alimenter comme de coutume, sans qu'il eût manifesté d'autres troubles apparents que ceux accusés par le thermomètre.

La marche de la maladie, chez cet enfant, est typique de la forme fruste de la fièvre jaune du premier âge.

La notion du processus épidémiologique dans la première enfance éclaire vivement les faits, contradictoires en apparence, qu'on relève dans tous les foyers endémiques de fièvre jaune concernant la sensibilité des natifs et celle des étrangers, au virus amaril. A Rio-de-Janeiro par exemple, la première de ces catégories ne paie, à partir de l'âge adulte, qu'un tribut extrêmement minime aux épidémies qui se succèdent chaque année.

C'est que la grande majorité des habitants de la ville ont été vaccinés par une première atteinte, presque toujours demeurée inaperçue, dans le cours de la première année de leur existence. Ceux qui ont échappé dans le premier âge ont été frappés au cours de l'enfance ou de l'adolescence et, pour une bonne part d'entre eux, la maladie a été reconnue, leur cas a été enregistré, ils savent qu'ils ont éprouvé une atteinte amarille.

De là l'affirmation des statisticiens tels que J. M. Teixeira et A. F. Vianna, que les enfants brésiliens, à partir de la pre-

mière année fournissent une contribution importante aux épidémies. Arrivé à l'âge adulte, le natif de Rio est régulièrement immunisé par une atteinte antérieure.

S'il y a des exceptions, elles sont extrêmement rares et, comme l'immunité conférée par la première atteinte est de durée et de solidité variables, on ne sait si l'on doit attribuer les quelques cas relevés chez les adultes, parfois à un âge avancé, à une première atteinte ou à une récurrence.

La catégorie des étrangers, au contraire, venus soit de pays lointains, soit de régions intérieures du Brésil où la fièvre jaune n'a pas accès, ne possède aucune immunité. Ce sont eux qui alimentent l'épidémie. En général, la majorité sont atteints pendant la première année de leur résidence dans la capitale ; il est rare qu'ayant traversé impunément une première saison épidémique, ils ne soient pas frappés à la seconde ou à la troisième. La fièvre jaune ne les épargne à aucun âge, mais le même phénomène que nous avons signalé chez les jeunes natifs se présente également pour les enfants étrangers : un certain nombre de ceux-ci, surtout avant la 10<sup>e</sup> année, sont vaccinés par une atteinte légère qui n'est pas susceptible d'être diagnostiquée. Ces atteintes frustes de fièvre jaune, qu'on pourrait appeler vaccinales, puisque leur effet principal est d'immuniser l'individu, quoique moins fréquentes chez les adultes, se rencontrent aussi parmi eux. Bien des étrangers ont habité Rio-de-Janeiro pendant de longues années, ont traversé des épidémies graves et s'exposent annuellement à la contagion, qui doivent leur immunité à une atteinte vaccinale bien qu'ils demeurent convaincus de n'avoir jamais eu la fièvre amarille. En les interrogeant, il est en général impossible de retrouver parmi leurs antécédents morbides une affection qui puisse être étiquetée fièvre jaune. Néanmoins, en quelques cas, nous avons pu, par ces interrogatoires, retrouver avec un degré suffisant de certitude, l'accès amaril qui avait été considéré comme un embarras gastrique ou un accès paludéen.

On a, jusqu'à ce jour, établi les statistiques de morbidité et de mortalité dans les divers foyers amarils, en tenant compte exclusivement des cas diagnostiqués avec certitude. Il est de toute évidence qu'on ne saurait procéder autrement. Le rapport des décès au nombre d'atteintes, qui résulte de ces statistiques,

est assez généralement entre 35 et 40 0/0. On ne peut plus considérer aujourd'hui ce chiffre comme l'expression de la vérité. Il n'est assurément pas possible de l'établir d'une façon exacte, puisqu'il faudrait pour cela faire entrer en ligne de compte toutes les atteintes vaccinales qui échappent justement à la statistique. Mais, si l'on ne peut préciser le chiffre, on doit reconnaître qu'il est très inférieur aux évaluations anciennes. Il est d'autant moins élevé qu'on considère des catégories de sujets d'âge différent : alors que le pourcentage de mortalité reste considérable pour les adultes, il est bien inférieur pour les enfants. Chez les enfants au-dessous d'un an en particulier, il est si faible qu'on serait moralement autorisé, dans un foyer amaril, à pratiquer l'inoculation à cet âge dans le but de déterminer l'immunité. Ce serait une véritable vaccination.

#### IV

##### IMMUNITÉ. — RÉCIDIVES. — RECHUTES

L'atteinte si bénigne des enfants suffit-elle à leur conférer une immunité durable? Nous sommes autorisés à le croire, puisque les nationaux qui ne prennent aucune mesure de protection contre les moustiques paraissent contracter rarement la fièvre jaune. Cette immunité connue depuis longtemps, et qu'on qualifiait d'immunité native, ne serait tout simplement donc qu'une immunité acquise. En règle générale la fièvre jaune ne récidive pas. C'est l'avis de tous les médecins qui ont été en contact avec elle, c'est aussi le nôtre.

Parmi les 3,000 cas que nous avons vus passer en 4 années à l'hôpital Saint-Sébastien, nous n'avons compté que très peu de Brésiliens. Parmi ceux-ci quelques-uns seulement étaient nés à Rio ou dans les États du Nord. Pour ainsi dire tous étaient originaires des États brésiliens indemnes de fièvre jaune, Minas-Geraes, Saô-Paulo, Rio-Grande, Santa-Catharina. Ce fait montre que les États du Nord, quelque rare que paraisse la fièvre jaune dans certains d'entre eux, sont cependant tous des foyers endémiques.

Parmi ces Brésiliens des États indemnes, nous avons eu de nombreux malades de race noire. Nous nous contenterons de



rapporter brièvement l'observation de deux femmes négresses qui ont succombé à la maladie.

L'une. B. M. C., âgée de 23 ans, provenait de l'État de Minas. Elle était à Rio depuis 8 mois et quittait pour la première fois le pays où elle était née. Entrée au 8<sup>e</sup> jour de la maladie, le 5 janvier 1903, elle avait présenté au début tous les symptômes classiques. frisson, fièvre, vomissements, coup de barre et douleurs dans les jambes. Au moment où nous la voyons elle a les sclérotiques ictériques, la muqueuse palatine jaune, le pourtour des dents fuligineux. La langue est rôtie, rouge et fendillée sur les bords, les commissures des lèvres sont tachées de petits caillots sanguins. Elle a eu des vomissements noirs depuis 4 jours. A l'hôpital, il ne s'en est pas reproduit mais les selles sont mélaniques. L'urine, émise en très faible quantité, contient beaucoup d'albumine. La pression sur l'abdomen réveille une vive douleur. La malade est très faible, elle répond à peine aux questions qu'on lui pose. Sa température, qui ne dépassait pas 38°.2 à l'entrée, reste à 37° le 6 et le 7 janvier au matin; elle remonte à 38° le soir. La malade meurt dans la nuit. L'autopsie a permis de constater une dégénérescence caractéristique du foie.

La seconde malade. E. M. D., âgée de 63 ans, est entrée le 31 mars 1904. Elle était originaire de l'État de Rio-de-Janeiro et avait toujours vécu sur le plateau de la chaîne des Orgues, à une altitude de 900 à 1,000 mètres, où la fièvre jaune est totalement inconnue. Elle était venue à Rio depuis peu de jours. Prise de frissons le 27 mars, elle a eu la rachialgie classique accompagnée de vomissements alimentaires. Elle avait encore, dit-elle, une forte fièvre le 30 au soir, veille de son entrée. Depuis le matin elle se sent mieux; cependant, elle a eu un vomissement noir, ce qui a motivé son transfert à l'hôpital de la fièvre jaune. La langue est très rouge et un peu saignante sur les bords. On note une grande quantité d'albumine dans les urines. La malade ne souffre plus, mais se sent très faible. Pendant la nuit, elle a eu d'abondants vomissements noirs. Le 1<sup>er</sup> avril, on note des selles mélaniques. La petite quantité d'urine qui a été extraite à l'aide de la sonde renferme beaucoup d'albumine.

Ces symptômes vont en s'aggravant, l'urine finit par être

supprimée et la malade meurt le 4 février au matin. A l'autopsie on constate les lésions d'un cas de fièvre jaune typique.

Ces 2 observations suffisent à démontrer qu'il n'y a pas d'immunité de race et que, si les nègres, en diverses contrées, paraissent insensibles à la fièvre jaune, c'est pour la même raison que les Brésiliens de Rio et des États du Nord; comme eux ils ont été immunisés par une ou plusieurs atteintes antérieures. Nous aurons à revenir dans un autre mémoire sur la prétendue immunité du nègre.

Quand nous disons que la fièvre jaune ne récidive pas, nous n'entendons point parler d'une façon absolue, mais seulement en général. Presque toujours, une première atteinte met à l'abri d'une nouvelle forme grave; cependant, l'immunité qu'elle confère n'est pas absolue. Nous sommes convaincus au contraire que les réinfections sont communes, mais bénignes et restent inaperçues. Combien de fois n'avons-nous pas vu des Brésiliens de Rio, atteint de petites fièvres de courte durée, qui n'avaient rien à faire avec le paludisme, et qui étaient diagnostiquées embarras gastriques ou intestinaux, même quand elles atteignaient à la fois ou à peu de jours d'intervalle toute une famille. D'ailleurs, si, comme nous le disions plus haut, on voit très rarement, à l'hôpital de la fièvre jaune, des Brésiliens nés à Rio ou dans le Nord, il nous a été permis néanmoins de vérifier, dans les quelques cas de cette catégorie que nous avons observés, que les malades étaient atteints de fièvre jaune, bénigne généralement, mais non douteuse.

De même, nous avons vu évoluer devant nous une forme légère chez une des infirmières. Cette infirmière, qui sert à l'hôpital São-Sebastião depuis de longues années, éprouve, dit-elle, tous les ans une maladie semblable.

Un infirmier du même hôpital, très ancien aussi dans le service, nous a montré un jour un vomissement noir qu'il avait eu quelques instants auparavant. Souffrant depuis quelques jours, il avait continué à travailler néanmoins. La constatation de ce symptôme, généralement si grave, ne l'a même pas arrêté. Il a guéri d'ailleurs sans autre complication.

Ces formes légères sont moins rares qu'on ne le pense chez les vaccinés; si l'on n'en observe pas davantage, c'est qu'il est très difficile de porter avec quelque certitude un diagnostic de

fièvre jaune quand le cas est léger. Elles contribuent à renforcer l'immunité, et l'on peut supposer que si, après un très long séjour hors du Brésil, les habitants de Rio sont exposés à présenter des atteintes caractérisées quand ils rentrent chez eux en saison épidémique, c'est parce qu'ils n'ont pu éprouver ces récidives légères hors du foyer de fièvre jaune. Cette crainte du retour paraît, au Brésil, être un peu exagérée, mais elle est justifiée par des exemples sensationnels. Il ne faut donc pas, nous le répétons, prendre au sens absolu cette affirmation que la fièvre jaune ne récidive pas. Une première atteinte donne une immunité réelle, mais souvent relative. Dans quelques cas, cette immunité s'efface même complètement et la maladie peut reparaitre sous une forme grave. Un des cas les plus rapidement mortels qu'il nous ait été donné d'observer, s'est produit chez un Brésilien qui n'avait jamais quitté la capitale et qui servait au régiment de pompiers depuis plusieurs années.

De même nous avons vu mourir un Français d'une deuxième atteinte de fièvre jaune, survenue 18 ans après la première.

Enfin le Dr Seidl, directeur de l'hôpital São Sebastião, nous a rapporté le cas d'un infirmier chez lequel il avait constaté une véritable idiosyncrasie : après avoir été soigné trois fois à l'hôpital pour la fièvre jaune, il a fini par succomber à une quatrième atteinte.

Ces observations suffisent à démontrer que quelquefois la maladie récidive sous la forme grave. Mais ce sont là des exceptions.

La rechute non plus n'est pas inconnue dans la fièvre jaune. Trois cas qui se sont produits à l'hôpital nous permettent d'affirmer son existence. Dans les trois cas une forme grave a succédé à une forme bénigne, la première est survenue 6 jours, la seconde et la troisième 10 jours après les premières manifestations. Chaque fois, le retour à la santé avait été assez complet pour faire croire à la guérison.

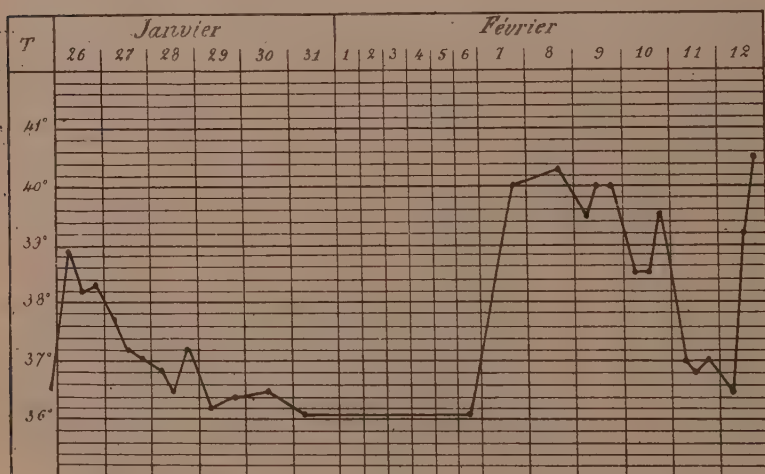
A titre documentaire nous donnons ci-dessous l'observation d'un de ces trois malades. Celle-ci peut servir de type, car les deux autres sont sensiblement identiques.

M. G. D., Portugais, âgé de 40 ans, était à Rio-de-Janeiro depuis 10 mois, quand, le 25 janvier 1905, à 9 heures du soir, il est pris d'un violent frisson. Il se couche, mais les violentes

douleurs qu'il éprouve toute la nuit dans la tête et dans les muscles de la masse lombaire l'ont empêché de dormir. Il a été en proie, d'ailleurs, à une forte fièvre. Comme il habite dans une cité où se sont déjà produits de nombreux cas de fièvre jaune, les médecins de la surveillance sanitaire l'envoient dès le 26 à l'hôpital.

A son arrivée, il accuse encore des douleurs dans la tête, la masse lombaire et les membres inférieurs. Les conjonctives sont rouges, le regard brillant, la face et la partie supérieure de la paroi thoracique sont hyperhémiciées. La langue, saburrale, est rouge à la pointe et sur les bords. Le pouls est petit et lent, quoique la température soit au-dessus de  $38^{\circ}$ . L'urine ne contient pas d'albumine.

27. Les douleurs de tête continuent, mais sont plus faibles. Le pouls est à 60. Il n'y a pas d'albumine dans les urines, mais on y constate la présence d'urates.



28. L'état général est bon. L'urine contient des traces d'albumine. A partir de ce jour, la température qui n'a été vraiment élevée qu'un jour, reste à la normale et le malade sort de l'hôpital le 31.

Il y revient le 8 février. — Depuis la veille au soir il a été repris des mêmes symptômes qui avaient entraîné sa première



entrée : frissons, céphalalgie, rachialgie et fièvre. Le 9, il a quelques vomissements. La langue est saburrale, rouge à la pointe et sur les bords. Urine trouble, contenant de l'albumine. Délire pendant la nuit.

10. Le malade a émis 960 grammes d'urine albumineuse. A passé une mauvaise nuit avec agitation et subdélire. Il a eu des vomissements noirs.

Il se plaint de douleurs de tête violentes, la région abdominale est très sensible à la pression.

11. 300 grammes d'urine albumineuse. Délire pendant la nuit, vomissements noirs abondants.

12. 45 grammes d'urine en 24 heures. Vomissements noirs qui se répètent à chaque instant. Le délire continue. Il meurt à 7 heures du soir.

## V

### CONCLUSIONS

1<sup>o</sup> Le *Stegomyia fasciata* femelle, dès les premiers jours de son existence à l'état parfait, est capable de piquer l'homme de jour et de nuit. Au bout de très peu de temps, particulièrement après avoir fourni une première ponte, ce moustique cesse de piquer dans la journée. Il en résulte que, dans les circonstances normales, la transmission de la fièvre jaune n'a pas lieu de jour, tout au moins entre 7 heures du matin et 5 heures du soir ;

2<sup>o</sup> L'ingestion de sang vivant est indispensable au *Stegomyia fasciata* pour le développement de ses œufs. Il obéit en cela à une loi qui paraît générale chez tous les culicides pourvus d'une trompe, et qui s'est vérifiée pour toutes les espèces que nous avons soumises à l'expérimentation. Peu après sa sortie des vaisseaux, le sang perd la propriété, ingéré par l'insecte, de favoriser la ponte ;

3<sup>o</sup> Chez la plupart des espèces de moustiques, la femelle meurt après l'acte de la ponte et ne peut, par suite, effectuer qu'une seule ponte. Le *St. f.* échappe à cette règle d'une façon générale. Dans cette espèce, la femelle est susceptible de fournir jusqu'à 7 pontes successives après un seul accouplement, à la condition d'ingérer à nouveau du sang après chaque ponte. Il

ressort de nos expériences qu'à l'état libre, les femelles *St. f.* peuvent fournir 2 ou 3 pontes en moyenne;

C'est à cette particularité biologique que l'espèce *Stegomyia fasciata* doit de pouvoir servir de véhicule à la fièvre jaune.

4° Il est facile de conserver vivants et de faire l'élevage, en France, du *St. f.* Pendant la saison d'été, la température de l'intérieur des habitations convient à ce moustique et il peut s'y multiplier à l'état libre, bien que d'une façon moins active que sous les climats tropicaux. Ce fait doit entrer en ligne de compte dans l'établissement des mesures de prophylaxie vis-à-vis des navires, suspects de fièvre jaune, arrivant dans nos ports au cours de l'été;

5° L'espèce humaine est, dès le premier âge, sensible à la fièvre amarille. Cette maladie évolue chez le tout jeune enfant d'une façon discrète et ne peut être diagnostiquée, à coup sûr, que dans les cas fort rares où elle aboutit au vomissement noir. La mortalité amarille chez les enfants, presque nulle dans la première année de l'existence, demeure très faible jusqu'à l'adolescence. Les cas frustes de fièvre jaune qui peuvent s'observer chez des sujets de tout âge, constituent la règle chez les enfants;

6° L'atteinte fruste de fièvre jaune infantile confère l'immunité. La durée et la solidité de cette immunité varient avec les individus, elle peut être entretenue par des récidives;

7° Les récidives de la fièvre jaune sont probablement plus fréquentes qu'on ne peut le constater. Beaucoup échappent à l'observation en raison de leur caractère de bénignité. Dans des cas exceptionnels, la fièvre jaune peut récidiver sous une forme grave;

8° La rechute est rare. Quand elle se manifeste, c'est en général avec un caractère de haute gravité.

---

# De l'anti-endotoxine typhique

ET

## des anti-endotoxines, en général.

PAR LE D<sup>r</sup> BESREDKA

---

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff.)

---

Dans une note antérieure <sup>1</sup>, en énumérant les propriétés de l'endotoxine typhique soluble, nous avons souligné son caractère spécifique; cette spécificité ressortait, entre autres, du fait que le poison en question ne se laissait neutraliser que par un sérum préparé que nous avons désigné sous le nom d'anti-endotoxique.

Or, comme jusqu'à ces temps derniers on ne parlait d'anti-endotoxines que pour nier leur existence, et on allait même jusqu'à nier la possibilité d'en jamais préparer, nous avons cru utile de décrire quelques-unes des propriétés de notre anti-endotoxine typhique, afin de lui permettre de prendre rang parmi les anticorps dûment reconnus.

Rappelons que dans la définition même de l'endotoxine entre la négation de l'existence d'anticorps. Il est, en effet, convenu de distinguer les toxines, à proprement parler, des endotoxines, d'après les deux caractères suivants : premièrement, les toxines, dit-on, sont sécrétées par des microbes vivants sans que leur intégrité en soit compromise. tandis que les endotoxines étant intimement liées aux corps de microbes, leur mise en liberté n'est possible que lors de la désagrégation des microbes. Deuxièmement, les toxines peuvent donner naissance aux anticorps, alors que les endotoxines, quel qu'en soit le mode d'injection, en sont tout à fait incapables : injectées à des animaux, elles ne font apparaître dans le sérum que des bactériolysines.

Cette distinction a été surtout très nettement mise en relief par l'assistant de R. Pfeiffer, Wolff <sup>2</sup> dont les idées à ce sujet

1. Ces *Annales*, juillet 1903.

2. *Centralbl. f. Bakter.*, I. Origin., t. XXXVII, 1904, p. 391, etc.

ont d'autant plus de poids que c'est à son maître que revient le mérite d'avoir le premier introduit la notion des endotoxines en bactériologie<sup>1</sup>.

C'est à l'impossibilité d'obtenir des anti-endotoxines que Wolff attribue la faillite des sérums dits bactéricides dans la thérapeutique humaine. Ceux qui incriminent l'absence de propriétés antitoxiques font, d'après Wolff, fausse route, « l'insuffisance des sérums étant due à l'incapacité de l'organisme de fabriquer des anticorps contre les endotoxines », et il ajoute que « jusqu'à présent tous les efforts pour obtenir des anti-endotoxines n'ont abouti à rien et il y a tout lieu de croire qu'il en sera de même dans l'avenir »<sup>2</sup>.

Or, les anti-endotoxines existent, et comme nous l'avons montré dans notre note de juillet dernier, pour en préparer le procédé le plus sûr et le plus expéditif consiste à *immuniser avec des cultures entières par la voie veineuse*.

\*  
\* \*

Le cheval « Lange » qui a servi à l'immunisation, avait reçu, en injections intraveineuses, d'abord des cultures chauffées à 60°, puis des cultures vivantes de b. typhiques sur gélose. Les injections étaient faites tous les 15 jours. Le cheval réagissait fortement (40°-41°) à chaque injection, et cela quelle que fût la dose de virus injecté. Pour ménager notre animal qui était plutôt vieux, nous lui injections peu de microbes à la fois : depuis deux ans qu'il est en expérience, il n'a jamais reçu plus de deux cultures sur gélose en une seule fois.

Après 6 mois d'immunisation, on a pu constater que son sérum possédait, en plus des propriétés connues, communes à tous les sérums antimicrobiens, encore celle de neutraliser l'endotoxine, solide ou liquide.

Nous entendons par endotoxine solide les corps de bacilles, recueillis après 16-20 heures de culture sur gélose, tués et deséchés dans le vide. Cette endotoxine, délayée dans 1 c. c. d'eau physiologique, tue un cobaye de 300-350 grammes à la dose moyenne de 0<sup>gr</sup>,01.

1. Voir les travaux de Pfeiffer et de ses élèves. in *Zeitschr. f. Hygiene*, 1892-1896.

2. *Loc. cit.*



En partant de ces bacilles secs on peut préparer, par un procédé déjà décrit et que nous avons perfectionné depuis, une endotoxine liquide qui produit les mêmes lésions que le produit originaire et qui, en plus, a l'avantage d'être plus pure et plus active, à volume égal.

L'endotoxine solide qui délayée dans 1 c. c. d'eau physiologique, tue en injection intrapéritonéale, à la dose de  $0^{\text{gr}},01$ , devient inoffensive en présence de 1 c. c. de sérum normal de cheval; parfois, on arrive à neutraliser deux doses mortelles, mais jamais plus.

Or si, au lieu de sérum normal, on ajoute du sérum de « Lange » à l'endotoxine solide, on peut injecter de celle-ci impunément 5, 10 et jusqu'à 12 doses mortelles, à la condition d'ajouter  $0^{\text{gr}},05$ ,  $0^{\text{gr}},1$ ,  $0^{\text{gr}},2$  de sérum préparé, sec.

Dans ces expériences de neutralisation, on arrive bientôt à une dose maxima d'endotoxine, que l'on ne franchit pas : nous pensons que cela tient surtout à ce que l'on injecte inévitablement, en même temps que l'endotoxine contenue dans les corps de microbes, aussi une énorme quantité de substances étrangères contre lesquelles les leucocytes du péritoine ne peuvent rien.

Nous le pensons d'autant plus volontiers que dans le cas d'endotoxine liquide, comme nous allons le voir, la neutralisation par le même sérum de « Lange » peut être poussée plus loin.

Ce n'est pas seulement au contact que se manifeste l'action spécifique du sérum. On peut injecter à un cobaye  $0^{\text{gr}},05$ - $0^{\text{gr}},1$  de sérum préparé *sous la peau* avec la certitude que le lendemain l'animal survivra à une inoculation d'une dose sûrement mortelle d'endotoxine *dans le péritoine*.

Il n'est pas même besoin d'attendre 24 heures; l'expérience réussit aussi bien si l'on injecte le sérum sous la peau 1 heure seulement *avant* l'endotoxine, laquelle est, naturellement injectée dans le péritoine.

Dans plusieurs cas nous avons réussi à préserver le cobaye, même en injectant *simultanément* le sérum sous la peau et l'endotoxine dans le péritoine; nous devons toutefois remarquer que cela ne réussit pas à tout coup.

Lorsque, au lieu d'injecter le sérum « Lange », sous la peau,

on l'introduit dans le péritoine, on peut intervenir avec succès même plus tard. Ainsi, après avoir introduit dans le péritoine à une série de cobayes une dose sûrement mortelle d'endotoxine, nous leur injectâmes dans le péritoine du sérum spécifique après des intervalles de temps variables (après 15', 30', 1 h., 2 h., 3 h.). Ces expériences ont montré que 1 heure après l'injection d'endotoxine, et parfois même 2 heures après, on peut sauver l'animal; dans ce dernier cas il faut injecter plus de sérum (0<sup>gr</sup>,2). La dose d'endotoxine est choisie de façon à tuer le témoin en 12-18 heures.

Le sérum normal injecté dans les mêmes conditions ne préserve pas l'animal.

En présence des propriétés préventives, neutralisantes et, jusqu'à un certain degré curatives, que le sérum préparé « Lange » exerce vis-à-vis de l'endotoxine *solide*, on est donc tout autorisé à qualifier ce dernier d'anti-endotoxique.

\*  
\* \*

Les résultats sont à peu près les mêmes lorsque, au lieu d'employer des corps de bacilles chauffés et desséchés, on opère sur l'*endotoxine soluble* extraite de ces corps.

Le sérum normal de cheval, à la dose de 1 c. c. est capable de neutraliser une dose mortelle, très rarement, deux doses d'endotoxine liquide. Avec le sérum de « Lange », on arrive facilement à neutraliser 10-20 doses mortelles et plus. L'endotoxine que nous préparons maintenant et sur laquelle nous reviendrons prochainement, tue un cobaye de 300 grammes environ, à la dose de 1/8 c. c. Or, avec 0<sup>gr</sup>,2 de sérum sec de « Lange » on arrive à neutraliser jusqu'à 4 c. c. de cette endotoxine, c'est-à-dire 32 doses mortelles.

Bien qu'il nous ait été impossible de dépasser cette dose, nous ne pensons pas que l'on soit arrivé là à la dose limite de neutralisation, comme le cas s'est présenté pour l'endotoxine solide. Tout ce qu'on peut conclure de cette expérience, c'est que nous sommes à la limite d'action de notre échantillon de sérum; *a priori*, rien ne paraît s'opposer à ce que, en poussant l'immunisation plus activement et en purifiant l'endotoxine davantage, on n'arrive à une neutralisation plus parfaite.

Comme il fallait s'y attendre d'après les expériences faites

avec l'endotoxine solide, le sérum de « Lange » agit sur l'endotoxine soluble aussi dans le cas où il n'y a pas de contact, les deux liquides étant injectés séparément.

\*  
\* \*

Notre cheval ayant été immunisé uniquement avec des corps de bacilles, il est tout naturel que son sérum soit doué de propriétés protectrices vis-à-vis de l'infection typhique.

Que l'on injecte à l'animal 0<sup>gr</sup>.05 de sérum sous la peau la veille ou qu'on l'injecte seulement 2 heures avant les microbes, on est sûr de le préserver contre une péritonite typhique qui enlève le témoin en 12-16 heures.

L'issue est, par contre, à peu près fatale lorsqu'on injecte simultanément le sérum sous la peau et les bacilles typhiques vivants dans le péritoine.

On réussit, il est vrai, à sauver le cobaye à la condition d'injecter le sérum aussi dans le péritoine. Dans ce cas on peut intervenir avec succès 1 heure et même 2 heures après l'infection; passé ce délai on ne parvient qu'à retarder la mort de quelques heures.

\*  
\* \*

En terminant, nous voudrions dire quelques mots d'expériences déjà anciennes sur la peste que nous n'avons pas publiées et qui se rattachent à la question d'anti-endotoxines.

Ce même « Lange » dont il vient d'être question, a été destiné tout d'abord à la préparation du sérum antipesteux. Dès que nous fumes en possession de l'endotoxine pesteuse soluble <sup>1</sup>, nous nous sommes demandé si en injectant celle-ci dans les veines d'un cheval, il ne serait pas possible d'obtenir un sérum plus actif que celui que l'on possède aujourd'hui.

Après trois mois d'immunisation, nous essayâmes le sérum, à la fois vis-à-vis de l'endotoxine pesteuse solide (culture sur gélose, émulsionnées dans l'eau physiologique, chauffées à 60° (1 heure) et desséchées) et vis-à-vis de l'endotoxine pesteuse liquide.

Nous avons eu la joie de constater que nos prévisions se sont réalisées et que, en effet, le sérum ainsi obtenu neutralisait des doses multiples d'endotoxine pesteuse, aussi bien solide

1. Ces *Annales*, juillet 1905.

que liquide. Mais, lorsque pour faire une expérience de contrôle, nous primes le sérum antipesteux préparé par M. Dujardin-Beaumetz, nous ne fûmes pas peu surpris de constater que ce dernier, quoique préparé uniquement par injection des cultures sur gélose, se montra aussi anti-endotoxique, si ce n'est même plus que le nôtre.

Ces expériences sur la peste que nous avons alors jugé inutile de poursuivre, nous sont revenues à l'esprit lorsque plus tard chez le même cheval, nous vîmes apparaître l'anti-endotoxine typhique à la suite d'injection de bacilles typhiques dans les veines.

\* \* \*

En présence de ces faits, nous ne pouvons pas nous empêcher de faire un rapprochement entre ces deux anti-endotoxines et leur mode de préparation<sup>1</sup>, et de nous demander si nous ne sommes pas là en présence d'un procédé général de préparation de sérums anti-endotoxiques vis-à-vis des microbes à endotoxine, tels que le coli-bacille, le bacille de la dysentérie, le vibron cholérique, le bacille pyocyanique et quelques autres.

Si, d'une part, l'on pense que nombre de toxines décrites par les auteurs comme telles (typhiques, pesteuses et autres) rappellent à s'y méprendre les substances que l'on peut extraire des corps de *bacilles morts* et sont, par conséquent, selon toute probabilité, de simples endotoxines; si, d'autre part, il est vrai qu'un sérum peut devenir aussi anti-endotoxique, sinon plus, à la suite d'injection intraveineuse des corps de microbes qu'à la suite de celle d'endotoxines solubles, il faudra nécessairement arriver à cette conclusion que pour les microbes à endotoxine, (bac. d'Eberth, colibacille, bac. de la peste, vibr. cholérique, bac. de la dysentérie, bac. pyocyanique), l'introduction des corps de microbes, directement, dans la circulation générale est de tous les modes d'immunisation celui qui est appelé à donner les sérums les plus actifs.

---

1. Rappelons que le sérum antipesteux de l'Institut Pasteur est préparé par injection des cultures sur gélose *dans les veines* de cheval.



# La culture des microbes anaérobies

APPLIQUÉE A L'ANALYSE DES EAUX

---

## *Le rapport aérobie-anaérobie critérium du contag.*

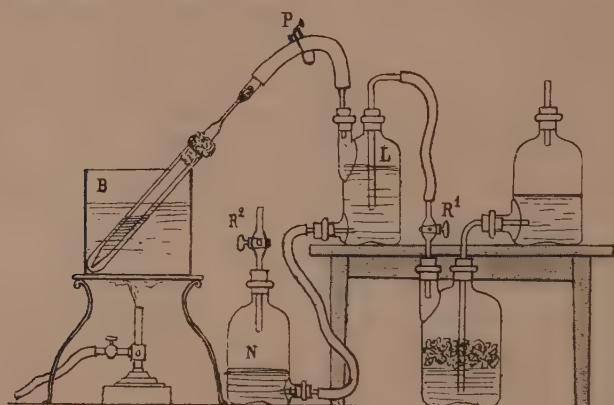
PAR ALFRED GUILLEMARD

---

I. — L'analyse bactériologique quantitative, telle qu'on l'effectue actuellement, se limite à la numération des colonies microbiennes qui se développent en présence de l'air et principalement sur une plaque de gélatine. La recherche des germes qui végètent à l'abri de l'oxygène est presque complètement négligée, et, dans les tableaux que font paraître régulièrement les laboratoires d'hygiène, on ne fait aucune mention de ces espèces. Cette lacune regrettable tient à l'absence d'une méthode pratique de culture des microbes anaérobies : la technique usitée en bactériologie pure est, d'une manière générale, beaucoup trop compliquée pour être utilisée par l'analyste qui doit préparer un nombre important de dosages dans un très court délai. Cette considération m'a incité à simplifier quelques-unes des méthodes les plus couramment employées : en modifiant légèrement les procédés décrits par M. le Dr Roux, je suis arrivé à combiner un dispositif qui permet de cultiver les anaérobies avec une grande facilité, tout en n'exigeant qu'un matériel très sommaire.

Comme récipient de culture, j'ai écarté le tube de Vignal, qui est trop encombrant à cause de sa longueur et le tube de Veillon, parce que les colonies sont disséminées dans une épaisseur considérable de substratum qui rend leur observation difficile. Je m'en suis tenu à la pipette de Pasteur, un peu plus grande que celle journellement employée dans les laboratoires, soit 0<sup>m</sup>,25 de longueur (4 dans le tube d'un mètre). Je la confectionne (par économie), avec le verre dit extra-mince, ayant un diamètre de 8 millimètres, mesuré au pied à coulisse. Cette pipette possède une contenance de 9 à 10 c. c., soit le volume des milieux de culture conservés dans les tubes à essais à la hauteur de trois travers de doigt. Elle est effilée à sa

partie inférieure et étranglée à sa partie supérieure de façon à pouvoir loger un tampon d'ouate. C'est par cette extrémité qu'on la rattache à l'appareil à hydrogène. Celui-ci est établi pour servir à deux usages : 1° chasser l'air de la pipette et de la culture pour le remplacer par l'hydrogène; 2° aspirer cette culture dans la pipette de Pasteur à l'abri de l'oxygène. Dans ce but, j'ai fait communiquer le flacon de lavage du gaz L avec un flacon de niveau N, par un tube de caoutchouc raccordé à la tubulure inférieure de chacun des flacons. Par un mouvement d'abaissement du niveau, on comprend qu'après avoir interrompu le courant du gaz, on pourra produire une dépression dans la pipette et y faire refluer le contenu du tube à essais.



L'ordre des opérations se fait donc ainsi :

1° Liquéfier le milieu de culture. Ensemencer à la température de 38-40° (pour la gélose) avec l'eau à essayer et diluée dans la proportion voulue ;

2° Flamber la pipette. La rattacher à l'appareil à hydrogène et faire passer un courant rapide de gaz ;

3° Fermer la pince P. Placer la pipette dans le tube de culture mis en réserve dans le bain-marie B à 38-40° et la caler avec un peu d'ouate. Ouvrir doucement la pince P. de façon à faire passer un courant continu d'hydrogène, en évitant toutefois des bulles de gaz trop fortes ;

6° Après quelques minutes de barbotage, fermer le robinet R<sub>1</sub> du gazogène, ouvrir le robinet R<sub>2</sub> du flacon de niveau et, lorsque la culture a rempli la pipette, fermer l'étranglement avec une

petite flamme. Fermer pareillement l'effilure inférieure et laisser refroidir dans une éprouvette remplie d'eau froide.

Mettre à l'étuve à 37°.

Je dois faire aussi quelques remarques sur la préparation de la gélose nutritive.

Je considère comme un mauvais procédé la clarification des milieux aux moyen du blanc d'œuf. L'albumine, en effet, se dissout toujours un peu, à la faveur de l'alcalinité des préparations, en formant des alcali-albumines. Or, j'ai pu me convaincre, par des expériences répétées, que ce produit est la cause principale de cette mousse persistante qui se manifeste quand on opère le vide ou qu'on fait barbotter un gaz dans sa solution. De plus sous l'influence de l'acidité qui se développe ultérieurement dans les cultures, l'albumine dissoute se coagule, le milieu s'opacifie, et l'observation des colonies ne se fait plus que péniblement.

On pourra préparer la gélose en employant la méthode habituelle modifiée ainsi :

Porter à l'ébullition et cuire ensuite pendant 10 minutes le mélange suivant :

Eau.....	1,000 grammes.
Viande hachée.....	500 —
Peptone.....	10 —
Sel.....	5 —

Exprimer. Filtrer à chaud. Laisser refroidir 12 heures. Filtrer à froid : la solution doit être limpide et acide. Compléter à un litre s'il y a lieu. Ajouter un fragment de papier de tournesol rouge, puis de la soude à 36° B., goutte à goutte, jusqu'au bleuissement du tournesol. Ajouter alors 10 grammes de gélose. Faire fondre à la chaleur, puis porter à 115-120° à l'autoclave. On doit avoir un abondant précipité de phosphate terreux qui, en se déposant, clarifie parfaitement la solution. Filtrer, distribuer en tubes, stériliser à température plus basse que précédemment, etc.

Cette gélose à 1 0/0, ainsi préparée, est presque aussi transparente que la gélatine dans les pipettes de 8 mm. de diamètre. Elle me sert également à confectionner les plaques de Pétri, nécessaires à la numération des microbes aérobies.

\*  
\* \*

II. — Dans la pratique des analyses, je prépare donc 2 essais :



l'un, en milieu anaérobie avec la pipette de Pasteur, l'autre en milieu aérobie avec la plaque de Pétri. Ces deux cultures sont mises ensemble en observation à la température de 37-38°. Je préfère cette température à celle de 22° usitée avec la gélatine, d'abord parce qu'on obtient des résultats parfaitement suffisants en 2 ou 3 jours au lieu de 15, ensuite le nombre des colonies qui se développent ainsi représente, d'une manière plus parfaite, la teneur en bactéries susceptibles de proliférer dans l'organisme vivant et qui sont, pour l'hygiéniste, beaucoup plus intéressantes à dénombrer que les schizophytes vulgaires qui périssent ou ne peuvent se multiplier à la température du corps humain.

Pour avoir une idée de la répartition des espèces microbiennes dans une eau, il faudrait pouvoir séparer et ranger les micro-germes en trois classes : aérobies, facultatifs et anaérobies. Bien que cela ne soit pas complètement impossible, l'importance du travail, la mise en œuvre d'un matériel considérable, obligent dans la pratique à renoncer à ce dessein. En effet, il est indispensable, pour spécifier un germe, de l'ensemencer dans un milieu de culture différent de celui où il a végété. Or, on compte une moyenne de 100 ou 200 colonies réparties entre les 10 plaques et les 10 pipettes que comportent une analyse. Si donc on emploie, pour chacun de ces repiquages, 2 tubes de gélose afin d'avoir un résultat certain, cela fait un total de 200 ou 400 cultures partie aérobies, partie anaérobies, qu'il faut surveiller avec soin. Je n'insiste pas sur la possibilité d'un pareil travail qui dans les laboratoires d'hygiène doit se répéter journallement avec plusieurs échantillons d'eau.

On est donc obligé de s'en tenir à la notion du milieu, à la place de la notion individuelle : je veux dire qu'on classera les résultats de l'analyse en deux groupes : d'une part, les germes se développant à l'abri de l'air, comprenant les anaérobies vrais et les microbes facultatifs ; d'autre part, les germes se multipliant au contact de l'oxygène, réunissant les aérobies stricts avec les facultatifs notés en premier lieu. Mais cette classification ne sera pas inutile, car, en comparant les résultats de chacune de ces numérations on obtiendra un élément nouveau, un rapport, propre à dégager les conclusions de l'analyse. Pour établir ce rapport il sera avantageux de ramener à 1,000 le chiffre d'un des



dosages, celui effectué en milieu aérobie, par exemple, et de calculer le chiffre proportionnel qui correspond à l'autre essai.

C'est de cette façon que j'ai obtenu le tableau suivant, en expérimentant avec quelques eaux de la région parisienne.

Nature de l'eau.	Nombre de colonies se développant à 37°.		
	En milieu aérobie.	En milieu anaérobie.	Rapport.
	par c. c.	par c. c.	
Vanne, Fontaine publique III <sup>e</sup> arrond....	92	7	1000/76
Marne, Eau filtrée alimentation banl. est.	23	8	1000/347
Marne (rivière) à Nogent.....	8.500	730	1000/86
Seine à Ivry.....	6.000	1.800	1000/300
Seine au Point-du-Jour.....	56.000	5.600	1000/100
Eau d'égout à Gennevilliers.....	10.850.000	5.650.000	1000/520
Terre de jardin (100 gr. dans 1 litre eau stérile).....	par gr. 2.400.000	par gr. 1.400.000	1000/580
Matière fécale (1 ôse dans 20 c. c. eau stérile).....	par ôse. 4.000.000	par ôse. 7.000.000	1000/1750

Ce tableau, que je n'ai dressé qu'à titre de simple indication, offre quelques exemples de l'utilisation du rapport aérobie-anaérobie pour expliquer les variations qui se manifestent dans la composition bactérienne d'une eau et déterminer, de ce fait, la solution du problème.

Ce qui frappe tout d'abord, c'est la forte proportion, la prépondérance même des microbes anaérobies, dans la flore intestinale : toute eau contaminée par les microgermes des résidus de la vie n'échappera pas à ce témoignage indubitable, qu'elle soit polluée directement, comme le sewage d'une ville, ou indirectement comme peut l'être une rivière recevant les apports des pluies après leur ruissellement sur des sols souillés de détritits. C'est cette contamination que l'on constate dans la Seine, d'abord avant l'entrée du fleuve dans Paris, puis à la sortie, où la teneur en anaérobies passe de 1.800 à 5.600. Quant à la forte proportion de microbes aérobies dont cette rivière s'est enrichie pendant la traversée de la ville (56.000, chiffre se rapprochant des analyses officielles), elle provient très probablement de la multiplication de ces germes pendant leur parcours jusqu'au fleuve : la numération brute et le rapport des dosages démontrent donc dans ce cas une auto-infection.

Je vais maintenant choisir l'exemple contraire.

La composition moyenne de la Vanne, ainsi que le tableau l'indique, est la suivante : aérobies 92, anaérobies 7. En comparant à ces nombres les résultats d'un autre dosage dans lequel j'avais trouvé : aérobies 111, anaérobies 15, il est hors de doute que ce dernier prélèvement était plus contaminé que le premier. Cependant, ces chiffres à première vue n'indiquent pas un contage excessif, puisqu'on trouve comme différence  $111 - 92 = 19$  aérobies et  $15 - 7 = 8$  anaérobies. Mais si l'on consulte les rapports  $1,000/76$  et  $1,000/136$ , on voit que l'accroissement n'est pas dû à une auto-infection, mais à une souillure venue de l'extérieur (fait important dans une eau d'alimentation), car, même en admettant que le chiffre d'anaérobies représente seulement des microbes facultatifs qui aurait pu se multiplier dans les réservoirs d'emmagasiner ou dans les conduites de distribution, il n'y a aucune raison pour que les germes aérobies ne se soient pas développés dans les mêmes proportions.

Je termine ces citations en exposant les conclusions relatives à l'épuration de la Marne. Cette épuration semble avoir amélioré considérablement l'eau de cette rivière, puisque, partant de 730 anaérobies on n'en trouve plus que 8 après la filtration, soit sensiblement la teneur de l'eau de la Vanne (7). D'après ces résultats on peut mettre en comparaison l'eau de la Marne filtrée avec l'eau de source. Mais si l'on veut savoir sur quels germes l'épuration biologique a exercé son influence, alors les rapports  $1,000/86$  d'une part et  $1,000/347$  d'autre part, montrent que les anaérobies ont disparu beaucoup moins vite que les aérobies, puisqu'ils demeurent proportionnellement quatre fois plus nombreux dans l'eau épurée ( $347/86$ ). Et dès lors, il est tout indiqué de chercher à améliorer le travail de l'épuration en portant l'attention sur la teneur en anaérobies.

En résumé, de toutes ces considérations, il résulte que l'appréciation de la contamination d'une eau, l'évaluation de la *densité* de la pollution, si je puis m'exprimer ainsi, sont l'apanage de la numération simple; mais le rapport aérobie-anaérobie permet seul de déceler le *sens* du contage.

---

Le Gérant : G. MASSON.

---

Sceaux. — Imprimerie Charaire.